

**NEOPLASIAS ESCAMOSAS DE LA
SUPERFICIE OCULAR EN EL CHUS 1995-2014:
ESTUDIO CLÍNICO, HISTOLÓGICO E
INMUNOHISTOQUÍMICO**

Begoña de Domingo Barón

Departamento de Cirurxía e Especialidades
Médico- Cirúrxicas

Programa de Doutoramento en Ciencias da Visión

Facultade de Medicina

Santiago de Compostela

2017



BEGOÑA DE DOMINGO BARÓN

**NEOPLASIAS ESCAMOSAS DE LA SUPERFICIE
OCULAR EN EL CHUS 1995–2014:
ESTUDIO CLÍNICO, HISTOLÓGICO E
INMUNOHISTOQUÍMICO**

DEPARTAMENTO DE CIRURXÍA E ESPECIALIDADES
MÉDICO-CIRÚRXCAS
PROGRAMA DE DOUTORAMENTO EN CIENCIAS DA VISIÓN

FACULTADE DE MEDICINA

SANTIAGO DE COMPOSTELA

2017



Memoria realizada en el Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina, bajo la dirección de los profesores Dr. Juan Cuevas Álvarez, Dra. M^a Teresa Rodríguez Ares y Dra. M^a Rosario Touriño Peralba, para obtener el Grado de Doctor por la Universidad de Santiago de Compostela.





Á miña familia.



*“Si crees que puedes, ya estás a medio camino”
(Theodore Roosevelt)*



Agradecimientos

En la medicina como en la vida misma, *“Ninguno de nosotros es tan bueno como todos nosotros juntos”*.

En primer lugar, quiero agradecer a mis directores, M^a Teresa Rodríguez Ares, Juan Cuevas y M^a Rosario Touriño, su desinteresada dedicación y sus consejos.

En segundo lugar, quiero dar las gracias especialmente al Profesor Tomás García-Caballero, por su gran ayuda, para que el mundo de las células y las inmunotinciones formara parte de mi día a día en la clínica. De obligada mención es el personal del Servicio de Anatomía Patológica del CHUS, y en especial, Patricia Viaño, que me facilitó en todo momento los medios y el material necesarios para que este trabajo sea ya un hecho.

En tercer lugar, a mis compañeros del Servicio de Oftalmología de Ferrol, que han permitido que compaginara horarios incompatibles. A mi compañera y amiga, Isabel Gómez Torrijos, quien me ha ayudado en muy diversos sentidos, indispensable en tantas horas de dedicación. A mi jefa, María Dolores Álvarez, por su apoyo y permanente confianza.

En cuarto lugar, a Dominic Royé, a quien considero, además de un amigo, un gran profesional. Es un ejemplo a seguir en lo que se refiere a trabajo, dedicación y superación diarias en el ámbito de la investigación. Danke!!

En quinto lugar, aunque nunca sería suficiente expresar toda mi gratitud en estas líneas, a Pablo Dono, una persona muy especial en mi vida, agradecerte tu paciencia, tu ayuda y tus ánimos durante este tiempo. Sin ti no habría sido posible.

Y por último, a las personas más importantes, a las que les dedico este trabajo, mis padres, mi hermano y mis hijos, Adrián y Pablo. Os doy las gracias por vuestro tiempo y vuestro cariño.

Gracias – Grazas - Eskerrik asko



NEOPLASIAS ESCAMOSAS DE LA SUPERFICIE OCULAR EN EL CHUS 1995–2014: ESTUDIO CLÍNICO, HISTOLÓGICO E INMUNOHISTOQUÍMICO

Las neoplasias escamosas de la superficie ocular son el tercer tumor ocular más frecuente, tras el melanoma y el linfoma. Engloban un espectro de lesiones que va desde las displasias leves hasta los carcinomas infiltrantes de la superficie ocular. Su incidencia mundial es de 0,18/100.000/año en hombres y 0,08/100.000/año en mujeres; siendo el perfil demográfico de estos pacientes diferente en función de las características geográficas y socio–económicas del lugar de residencia. En países en vías de desarrollo, el virus de la inmunodeficiencia humana parece jugar un papel importante en el desarrollo y peor pronóstico de estos tumores, encontrándose los mayores índices de incidencia en países del hemisferio sur localizados a 16° de latitud. Los factores que inducen daño en el ADN celular, fallo en los mecanismos de reparación o alteración en la respuesta inmunitaria favorecen la aparición y el desarrollo de neoplasias a todos los niveles.

La sospecha clínica junto a métodos indirectos o técnicas de imagen no invasivas orienta hacia el tipo de lesión que tenemos y ayuda a la monitorización del tratamiento y evolución posterior. Sin embargo, el diagnóstico de certeza solo se obtiene mediante biopsia y estudio histopatológico posterior.

La premura en el diagnóstico y el conocimiento cada vez más exhaustivo del comportamiento y evolución de estas neoplasias es importante para el seguimiento adecuado de las mismas. Las técnicas inmunohistoquímicas podrían reflejar la capacidad proliferativa y el grado de malignidad de la lesión a estudio, proporcionando un dato crucial a la hora del tratamiento de la misma.

La supervivencia de los pacientes con estas lesiones en la superficie ocular es muy buena, siendo el principal problema en estos casos la recidiva tumoral. La utilización de técnicas quirúrgicas depuradas junto al desarrollo de tratamientos farmacológicos eficaces han contribuido sustancialmente en la calidad de vida de estos pacientes.

Nuestro estudio revisa las características clínicas, histopatológicas e inmunohistoquímicas de las neoplasias escamosas de la superficie ocular diagnosticadas histopatológicamente en el Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela en la última década con el fin de establecer posibles relaciones entre estos factores, que permitan al clínico y al anatomopatólogo una visión integral de esta patología pudiendo orientar el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de cada paciente.

Nuestros resultados abren nuevos interrogantes que requieren seguir investigando en esta línea para intentar establecer patrones de interrelación entre la clínica, la histopatología y la inmunohistoquímica. Serían necesarios estudios prospectivos multicéntricos que recogieran datos referentes a estos tres niveles para poder identificar parámetros que permitieran conocer el comportamiento más probable de estas neoplasias.

Palabras clave: OSSN, aspecto clínico, histopatología, recurrencias, Ki-67, p21

Cómo citar: De Domingo, B. (2017): Neoplasias escamosas de la superficie ocular en el CHUS 1995-2014: estudio clínico, histológico e inmunohistoquímico. Tesis Doctoral, Departamento de Cirugía y Especialidades Médico-Quirúrgicas, Universidad de Santiago de Compostela, 149 p. + anexos

NEOPLASIAS ESCAMOSAS DA SUPERFICIE OCULAR NO CHUS 1995-2014: ESTUDO CLÍNICO, HISTOLÓXICO E INMUNOHISTOQUÍMICO

As neoplasias escamosas da superficie ocular son o terceiro tumor ocular máis frecuente, tras o melanoma e o linfoma. Engloban un espectro de lesións que vai desde as displasias leves ata os carcinomas infiltrantes da superficie ocular. A súa incidencia mundial é de 0,18/100.000/ano en homes e 0,08/100.000/ano en mulleres; sendo o perfil demográfico destes pacientes diferente en función das características xeográficas e socio-económicas do lugar de residencia. En países en vías de desenvolvemento, o virus da inmunodeficiencia humana parece xogar un papel importante no desenvolvemento e peor pronóstico destes tumores, atopándose os maiores índices de incidencia, en países do hemisferio sur localizados a 16º de latitude.

Os factores que inducen dano no ADN celular, erro nos mecanismos de reparación ou alteración na resposta inmunitaria favorecen a aparición e o desenvolvemento de neoplasias a todos os niveis. A sospeita clínica xunto a métodos indirectos ou técnicas de imaxe non invasivas orienta hacia o tipo de lesión que temos e axuda á monitorización do tratamento e evolución posterior. Porén, o diagnóstico de certeza só se obtén mediante biopsia e estudo histopatolóxico posterior. A premura no diagnóstico e o coñecemento cada vez máis exhaustivo do comportamento e evolución destas neoplasias é importante para o seguimento adecuado das mesmas. As técnicas inmunohistoquímicas podían reflexar a capacidade proliferativa e o grao de malignidade da lesión a estudo, proporcionando un dato crucial á hora do tratamento da mesma.

A supervivencia dos pacientes con estas lesións na superficie ocular é moi boa, sendo o principal problema nestos casos a recidiva tumoral. A utilización

de técnicas cirúrxicas depuradas xunto ó desenrolo de tratamentos farmacolóxicos eficaces, contribuíron sustancialmente na calidade de vida destes pacientes. O noso estudo revisa as características clínicas, histopatolóxicas e inmunohistoquímicas das neoplasias escamosas da superficie ocular diagnosticadas histopatolóxicamente no Complexo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela na última década co fin de establecer posibles relacións entre estes factores que permitan ó clínico e ó anatomopatólogo unha visión integral desta patoloxía podendo orientar o diagnóstico, pronóstico e tratamento de cada paciente. Os nosos resultados abren novos interrogantes que requiren seguir investigando nesta liña para tentar establecer patróns de interrelación entre a clínica, a histopatoloxía e a inmunohistoquímica. Serían necesarios estudos prospectivos multicéntricos que recolleran datos referentes a estes tres niveis para poder identificar parámetros que permitiran coñecer o comportamento máis probable destas neoplasias.

Palabras chave: OSSN, aspecto clínico, histopatoloxía, recurrencias, Ki-67, p21

Cómo citar: De Domingo, B. (2017): Neoplasias escamosas da superficie ocular no CHUS 1995-2014: estudo clínico, histolóxico e inmunohistoquímico. Tese de Doutoramento, Departamento de Cirurxía e Especialidades Médico-Cirúrxicas, Universidade de Santiago de Compostela, 149 p. + anexos (en castelán)

OCULAR SURFACE SQUAMOUS NEOPLASIAS IN CHUS 1995–2014: CLINICAL, HISTOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY

Ocular surface squamous neoplasia is the third most frequent ocular tumour after melanoma and lymphoma. It encompasses a spectrum of lesions which range from simple dysplasia to an invasive squamous cell carcinoma of the ocular surface. OSSN occurs worldwide and the incidence is 0.18/100.000 a year in men and 0.08/100.000 a year in women: the demographic profile of these patients are different depending on the geographical and socio-economic characteristics of where they live. In developing countries, the human immunodeficiency seems to play an important part in the development and worst case prognosis of these tumours, the highest incidences being found in the southern hemisphere localized at 16° latitude. Factors which cause damage in the DNA cellular, failure in the repair mechanisms or alterations in the immune response, assist the appearance and development of neoplasia on all levels. Clinical suspicion together with indirect methods or noninvasive imaging techniques help to orientate us in the type of lesion and help monitor the follow up treatment and evolution. However, the gold standard for confirming diagnosis of OSSN is excisional biopsy for histopathology.

The urgency in diagnosis and increased understanding of how these neoplasia behave and evolve, is very important in their medical monitoring. Immunohistochemical techniques could reflect the proliferative capacity and the degree of malignancy of the lesion, providing fundamental data when it comes to treat the lesion.

The survival rate of patients who have these lesions on the ocular surface is very good. The main problem in these cases is the recurrence of the neoplasia. The

use of surgical techniques as well as the development of efficient drug treatment have substantially contributed to the quality of life of these patients.

Our study checks the clinical, histopathological and immunohistochemical characteristics of ocular surface squamous neoplasia diagnosed pathologically over the last decade in the University Hospital of Santiago de Compostela with the purpose of establishing possible links between these factors which allow the clinic and pathologist a holistic view of this pathology enabling them to guide the diagnosis, prognosis and treatment of every patient.

Our results give rise to new questions which require further investigation along these lines to try and establish patterns of interaction between the clinical, pathological and the immunohistochemical. Prospective studies of lots of centres would be necessary to collect data concerning these three levels so that we could identify parameters that would allow us to find out about the likely behaviour of these neoplasias.

Keywords: OSSN, clinical aspect, histopathology, recurrence, Ki-67, p21

How to cite: De Domingo, B. (2017): Ocular surface squamous neoplasias in CHUS 1995-2014: clinical, histological and immunohistochemical study. Ph.D. Dissertation, Department of Surgery, University of Santiago de Compostela, 149 p. + annex (in Spanish)





Índice general

Índice general	XVII
Índice de figuras	XXI
Índice de tablas	XXIII
Acrónimos	XXV

I Introducción: Neoplasias de la Superficie Ocular **1**

1 Definición y descripción histopatológica de la superficie ocular	3
2 Clasificación de las neoplasias de la superficie ocular	9
3 Neoplasias escamosas de la superficie ocular	29
3.1 Aspectos epidemiológicos	30
3.2 Aspectos etiopatogénicos	33
3.3 Aspectos clínicos e histopatológicos	37
3.4 Bases biomoleculares y marcadores inmunohistoquímicos	41
3.4.1 Ciclo celular	42
3.4.2 Ki-67	43
3.4.3 p21	44
3.5 Diagnóstico	45
3.6 Diagnóstico diferencial	53
3.7 Pronóstico	54

3.8 Tratamiento	56
II Hipótesis de trabajo y Metodología	65
4 Justificación de estudio	67
5 Hipótesis y Objetivos	69
5.1 Hipótesis de partida del estudio	69
5.2 Objetivos del estudio	70
6 Material y Método	71
6.1 Población de estudio	71
6.2 Estudio de datos clínicos	71
6.3 Estudio de datos histopatológicos	72
6.4 Inmunohistoquímica	73
6.5 Estudio de supervivencia libre de recidiva	74
6.6 Consideraciones éticas	74
6.7 Diseño de análisis estadístico	75
III Resultados y Discusión	79
7 Análisis descriptivo de parámetros a estudio	81
7.1 Parámetros clínicos	81
7.2 Parámetros histopatológicos	92
7.3 Parámetros inmunohistoquímicos	95
8 Relación entre parámetros clínicos, histopatológicos e inmunohistoquímicos	101
9 Análisis supervivencia libre de recidiva local	107
10 Discusión	113

Índice general

10.1	Parámetros clínico-histopatológicos	113
10.2	Parámetros inmunohistoquímicos	117
10.3	Supervivencia libre de recidiva	120
11	Conclusiones	125
	Bibliografía	129
	Índice de apéndices	151
	Apéndices	153





Índice de figuras

1.1	Corte histopatológico de la superficie ocular	7
2.1	Nevus de conjuntiva	13
2.2	Melanosis adquirida primaria de conjuntiva	16
2.3	Melanoma de conjuntiva	18
3.1	Mapa mundial del índice UV	32
3.2	Aspecto clínico de las OSSN	38
3.3	OSSN difusa	39
3.4	OSSN de aspecto maligno	40
3.5	OSSN corneal	49
3.6	UHR-OCT	52
3.7	Tratamiento de las OSSN con MMC	60
3.8	Tratamiento de OSSN con IFN intralesional	63
7.1	Distribución de las OSSN por sexo	83
7.2	Distribución de las OSSN por año de diagnóstico	84
7.3	Distribución de las OSSN por edad y sexo	85
7.4	Distribución de las OSSN por síntoma o signo	86
7.5	Distribución de las OSSN por color de piel y manchas cutáneas	87
7.6	Distribución de las OSSN por lugar de trabajo	88
7.7	Distribución de las OSSN por hábito tabáquico y sexo	89
7.8	Distribución de las OSSN por tamaño y aspecto clínico	90
7.9	Distribución de las OSSN por diagnóstico histopatológico	93
7.10	Distribución de los carcinomas/displasias severas por grado de diferenciación histopatológica	94

7.11	Displasia leve de la superficie ocular	96
7.12	Displasia moderada de la superficie ocular	97
7.13	Carcinoma epidermoide la superficie ocular	98
7.14	Valores de Ki-67 en las OSSN	99
7.15	Valores de p21 en las OSSN	100
8.1	Curva ROC – Ki-67 y p21	104
9.1	Distribución recurrencia por diagnóstico histopatológico	108
9.3	Probabilidad de recidiva de las OSSN según su tamaño	109
9.4	Probabilidad de recidiva de las OSSN según su localización	110
9.5	Probabilidad de recidiva de las OSSN según el tejido afectado	111
9.6	Probabilidad de recidiva de las OSSN según el tratamiento inicial recibido	111



Índice de tablas

2.1	Clasificación de los tumores melanocíticos de la superficie ocular .	11
2.2	Clasificación de las neoplasias estromales	20
3.1	Clasificación de las OSSN	48
3.2	Riesgos de recurrencia de OSSN	54
7.1	Tratamiento de las OSSN	91
7.2	Positividad de Ki-67 y p21 en las distintas OSSN	95
8.1	Distribución de OSSN según características clínicas/histopatológicas	101
8.2	Regresión logística: características clínicas	102
8.3	Ki67 y p21-Características clínicas/histopatológicas	105



Acrónimos*

5-FU 5-flourouracilo 57

ADN ácido desoxirribonucleico 33

ARN ácido ribonucleico 42

BMU Biomicroscopía Ultrasónica 45

CHUS Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela 71

CI citología de impresión 45

CIS carcinoma in situ 30

FCC carcinoma de células fusiformes 41

HE hematoxilina-eosina 72

IFN α 2b Interferon α 2b 24

IHQ inmunohistoquímica 17

MALT tejido linfoide asociado a la mucosa 24

MAP melanosis adquirida primaria 15

MC Microscopía Confocal 45

MEC carcinoma mucoepidermoide 40

*Los acrónimos empleados en esta tesis doctoral, han sido recogidos de la literatura científica universal.

MMC mitomicina C 19

NIE neoplasia intraepitelial 29

OCT Tomografía de Coherencia Óptica 50

OSSN neoplasias escamosas de la superficie ocular 10

PIO presión intraocular 5

SIDA síndrome de inmunodeficiencia adquirida 23

SO superficie ocular 3

UHR-OCT Tomografía de Coherencia Óptica de alta resolución 45

UV ultravioleta 33

UV-A ultravioleta-A 35

UV-B ultravioleta-B 33

VHS virus herpes simple 34

VIH virus de inmunodeficiencia humana 30

VP virus del papiloma 34

VPH virus del papiloma humano 10

VVZ virus varicela zoster 34

XP xeroderma pigmentoso 31





PARTE I

INTRODUCCIÓN: NEOPLASIAS DE LA SUPERFICIE OCULAR



1

Definición y descripción histopatológica de la superficie ocular

La superficie ocular (SO) en sentido estricto está constituida por la conjuntiva, el limbo y la córnea en íntima relación con la película lagrimal. Sin embargo, forma parte de una unidad funcional más amplia, integrada además por la glándula lagrimal principal y las accesorias, las glándulas de Meibomio, los párpados y los arcos neurales reflejos que los interconectan. Su homeostasis se mantiene gracias a la integridad de cada uno de sus componentes.

La *Conjuntiva* es una membrana mucosa vascularizada y traslúcida que recubre la superficie del globo ocular y de los párpados. Se puede dividir en tres porciones: la conjuntiva bulbar, incluyendo el limbo corneoconjuntival, que recubre la esclera en la parte anterior del globo ocular; los fondos de saco conjuntivales superior, inferior y laterales; y la conjuntiva palpebral, que incluye la zona de transición mucocutánea. Facilita los movimientos del globo y de los párpados mientras protege el contenido orbitario de agresiones externas y contribuye a la estabilidad de la película lagrimal gracias a la secreción mucosa de las células caliciformes y al control de la producción de anticuerpos a nivel de la lágrima (Font et al., 2006). Desde el punto de vista histopatológico, está formada por el epitelio y el estroma subepitelial. El epitelio conjuntival cerca del limbo y en la zona de transición mucocutánea es un epitelio escamoso, estratificado y no queratinizado. Las células epiteliales son columnares en el fondo de saco y tienden a ser cuboideas a nivel de la conjuntiva tarsal y bulbar. Las células caliciformes están presentes en las capas superficial y media del epitelio, siendo más numerosas en la parte inferior del fórnix e inexistentes a nivel del limbo. Los melanocitos se encuentran

dispersos en la zona basal del epitelio. El estroma se compone de tejido conectivo fibrovascular más grueso a nivel del fondo de saco. Contiene colágeno y tejido elástico; vasos incluidos arterias, venas y linfáticos; nervios y glándulas lagrimales accesorias.

Al igual que otras membranas mucosas, la conjuntiva contiene tejido linfoide asociado, por lo que podemos ver en el estroma numerosos linfocitos, células plasmáticas, mastocitos y polimorfonucleares neutrófilos. Los linfocitos pueden formar nódulos, pero no verdaderos folículos linfoides. Las conexiones linfáticas de la conjuntiva son paralelas a las de los párpados drenando a los ganglios linfáticos preauriculares y submandibulares (Saornil et al., 2009).

Los vasos sanguíneos conjuntivales derivados de las arterias ciliares anteriores mantienen su posición superficial y las ramas más profundas proporcionan la sangre a las arcadas corneales periféricas, al iris y al cuerpo ciliar. La innervación sensorial deriva de la rama V1 del V par craneal.

Existen regiones especializadas como la plica semilunar (pliegue vertical de conjuntiva situado lateral a la carúncula que contiene ocho o diez filas de células epiteliales con gran cantidad de células caliciformes) y la carúncula (prominencia localizada en el canto interno que contiene componentes conjuntivales y cutáneos altamente vascularizados e innervados, recubierta por un epitelio escamoso, estratificado y no queratinizado con gran cantidad de células caliciformes).

La *Córnea* es un tejido transparente y avascular altamente diferenciado con función óptica (transparencia y refractiva) y de barrera química y mecánica entre el ojo y el medio ambiente. La córnea humana consta de 6 capas (de anterior a posterior): epitelio corneal, membrana de Bowman, estroma, capa de Dua, membrana de Descemet y endotelio corneal.

La capa epitelial está formada por un epitelio escamoso, estratificado (4–6 capas de células), no queratinizado que morfológicamente se divide a su vez en tres capas: una capa única de células columnares basales que se unen mediante hemidesmosomas a la membrana basal epitelial (representan la capa germinativa del epitelio ya que son las únicas células epiteliales que tienen capacidad de dividirse por mitosis); dos o tres filas de células que tienen finas extensiones “en forma de alas” (en su periferia se unen por uniones tipo desmosoma o en hendidura tipo GAP); y dos capas de células de superficie alargadas y delgadas

unidas por puentes, similares a las células epiteliales superficiales de la piel, pero no queratinizadas. Después de un tiempo de vida de algunos días, las células superficiales se desprenden a la película lagrimal. Debido a su excelente capacidad de regeneración, el epitelio no se escarifica. Se asienta sobre la membrana de Bowman, una estructura acelular que representa la capa superficial del estroma. Está formada por fibras de colágeno tipo I organizadas al azar que sirven de protección al estroma corneal.

El estroma ocupa alrededor del 90 % del espesor de la córnea y está compuesto principalmente por capas de fibrillas de colágeno orientadas de forma regular. La separación entre las capas es mantenida por una sustancia fundamental de proteoglicanos con un sincitio de fibroblastos modificados (queratocitos) intercalados entre las capas. Los nervios sensitivos provenientes de la rama oftálmica del V par craneal. Fundamentalmente por vía de los nervios ciliares largos, tras formar un plexo anular en el limbo, pierden sus vainas de mielina y penetran en el estroma anterior, desde donde perforan la membrana de Bowman y penetran en el epitelio. El colágeno constituye aproximadamente el 71 % del peso seco de la córnea y es la macromolécula estructural que proporciona la transparencia tisular así como la resistencia mecánica a la presión intraocular (PIO). El colágeno tipo I es el que predomina, aunque también podemos observar colágeno tipo V y VI en pequeñas cantidades. Los queratocitos ocupan el 3-5 % del volumen estromal. Su función consiste en mantener las fibras de colágeno y la matriz extracelular mediante una actividad de síntesis constante. El estroma anterior es más compacto que el estroma posterior y difiere esencialmente en su composición de proteoglicanos (Bettelheim y Plessy 1975; Muller et al., 2001; Bron 2001).

En un estudio publicado en el año 2013 se puso de manifiesto la existencia de una nueva capa acelular y bien definida a nivel predescemética, que se denominó capa de Dua, compuesta fundamentalmente por colágeno tipo I (Dua et al., 2013).

La membrana de Descemet es la lámina basal gruesa segregada por el endotelio. Está compuesta por un fino enrejado de fibrillas de colágeno. Consta de dos capas, una zona estriada anterior, y una zona no estriada posterior, que está producida por el endotelio a lo largo de la vida. El endotelio corneal deriva de la cresta neural y consta de una única capa de células hexagonales. Desempeña una

función vital en el mantenimiento de la turgencia de la córnea.

El *Limbo* es la zona transicional entre los epitelios corneal y conjuntival. Morfológicamente se diferencia de la córnea en que posee células de Langerhans y melanocitos y de la conjuntiva en que carece de células caliciformes. El epitelio limbar se encuentra sobre un estroma altamente vascularizado, de donde le llega el aporte sanguíneo. Los vasos sanguíneos forman parte de las empalizadas de Vogt, que permiten una aproximación entre los vasos sanguíneos y el epitelio, proporcionándole altos niveles de nutrición y citoquinas (Mishra et al., 2016). Estas citoquinas tienen un papel importante en el mantenimiento de las células madre limbares y tienen tres patrones de expresión, las citoquinas tipo I, II y III.

La SO está compuesta, por tanto, por tres epitelios distintos: conjuntival, corneal y limbar (Fig. 1.1). Todos ellos epitelios estratificados, escamosos y no queratinizados procedentes de la superficie ectodérmica. Sin embargo, difieren en sus características y sus funciones, como se acaba de describir.

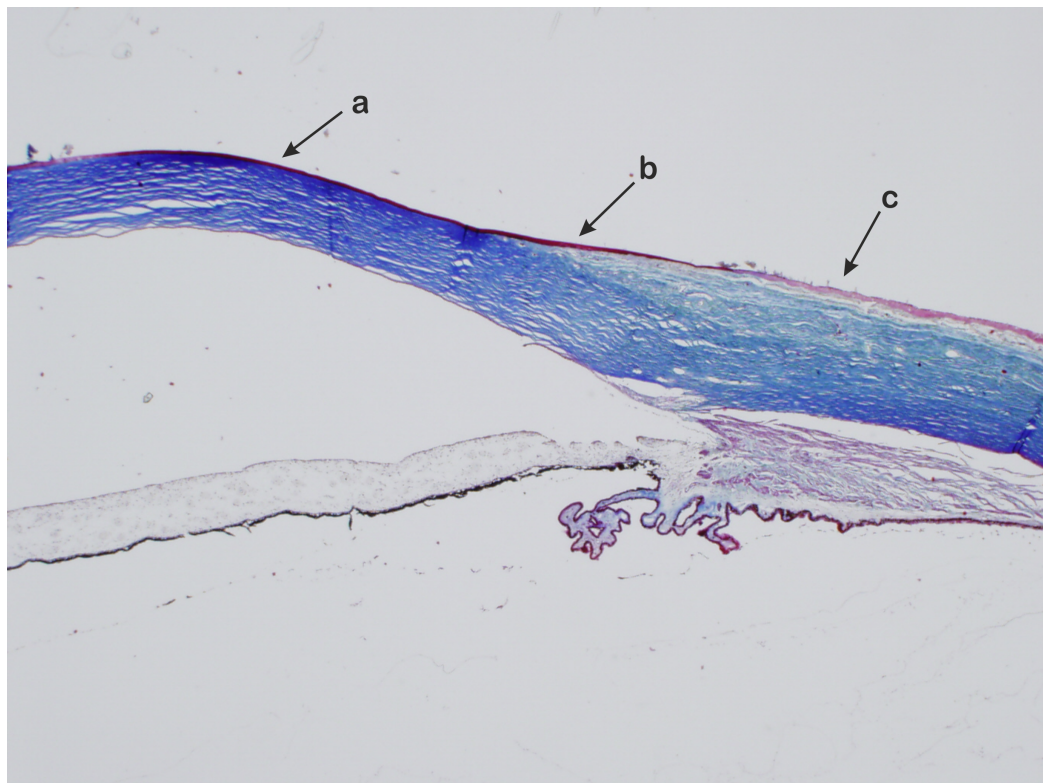


Figura 1.1: Corte histológico teñido con HE (aumento de objetivo, 10x) donde se observan los distintos epitelios de la superficie ocular: a) epitelio corneal, b) epitelio limbar, c) epitelio conjuntival.



2

Clasificación de las neoplasias de la superficie ocular

Las neoplasias de la SO abarcan un amplio espectro de lesiones, desde las puramente benignas a las que pueden poner en peligro la función visual y la vida del paciente si no son diagnosticadas precozmente, como el carcinoma epidermoide y el melanoma. Las neoplasias de la conjuntiva son las más frecuentes, junto con las de los párpados. Pueden surgir de cualquiera de los tipos celulares que componen la conjuntiva, aunque las más frecuentes son las de origen epitelial y melanocítico (Saornil et al., 2009).

Los tumores epiteliales representan entre un tercio y la mitad del total, siendo la prevalencia más alta en los países con mayor exposición actínica. Con respecto a los tumores melanocíticos la mayoría son benignos, reconociéndose variaciones según la pigmentación racial y la edad de los pacientes (Shields y Shields 2004; Saornil et al., 2009).

Clasificamos por tanto a las neoplasias de la SO en tres grupos: neoplasias epiteliales, tumores melanocíticos y otras neoplasias estromales.

Neoplasias epiteliales

Las neoplasias epiteliales de la SO se pueden clasificar en lesiones benignas y lesiones malignas. Se describen a continuación las principales características de las neoplasias epiteliales benignas que afectan a la SO. Las neoplasias epiteliales malignas engloban un amplio espectro de lesiones agrupadas bajo el nombre de

neoplasias escamosas de la superficie ocular (OSSN), que se describen de forma minuciosa en el capítulo 3, ya que son el objeto del estudio en nuestro trabajo.

Neoplasias epiteliales benignas

Papiloma Escamoso

Los papilomas escamosos se han asociado con el virus del papiloma humano (VPH). Algunos estudios han encontrado una fuerte asociación entre los serotipos 6/11 y 16/18 del VPH y el desarrollo de papilomas escamosos (Nagaiah et al., 2010; Di Girolamo 2012); sin embargo, otros estudios, no han encontrado relación entre la infección por VPH y la aparición de estas lesiones (Guthoff y Marx 2009).

Habitualmente, son lesiones sésiles o pediculadas de color rojizo, con múltiples ramificaciones vasculares finas que penetran hacia el estroma. Son lesiones asintomáticas, pero que en ocasiones pueden producir sensación de cuerpo extraño, dolor, irritación, lagrimeo, secreción mucoide e incluso problemas visuales. En niños, aparecen como lesiones múltiples pediculadas que suelen regresar espontáneamente. En adultos, aparecen generalmente, como lesiones únicas, que cuando crecen o se extienden por la SO simulan neoplasias malignas.

Quiste de Inclusión epitelial

Los quistes de inclusión epitelial son masas translúcidas subconjuntivales de contenido mucinoso o proteináceo que se forman tras cirugías, traumatismos o procesos inflamatorios. Son lesiones de pequeño tamaño y asintomáticas y no requieren tratamiento. En aquellos casos en los que se precise su extirpación, se recomienda realizar una escisión completa o marsupialización para prevenir recurrencias, sobre todo en lesiones de gran tamaño.

Queratosis Actínica / Placa Queratósica

Las queratosis actínicas y las placas queratósicas pueden considerarse lesiones precancerosas, con actividad proliferativa y pocas posibilidades de transformación a neoplasias intraepiteliales o carcinomas de células escamosas. Aunque clínicamente son similares, su etiopatogenia es diferente. Las queratosis actínicas presentan proliferaciones del epitelio de la SO con queratosis y las placas queratósicas presentan acantosis y paraqueratosis con queratinización del epitelio (Shields

y Shields 2004).

Queratoacantoma

Los queratoacantomas aparecen generalmente en la piel y solo en raras ocasiones podemos encontrarlos en la conjuntiva. Son lesiones benignas que suelen aparecer en sujetos ancianos como una masa nodular de crecimiento rápido, no dolorosa.

Tumores melanocíticos

Los tumores pigmentados de la conjuntiva representan aproximadamente un 50 % de las lesiones tumorales conjuntivales y afectan principalmente a pacientes de raza blanca. Son tumores procedentes de los melanocitos que migran desde la cresta neural hasta el epitelio y tejido subconjuntival, durante el desarrollo embrionario. Los melanocitos epiteliales se sitúan en la capa basal y son responsables de la mayor parte de las lesiones pigmentadas de la conjuntiva. Comprenden un amplio espectro de alteraciones que abarca desde lesiones benignas, como el nevus de conjuntiva, hasta lesiones malignas potencialmente letales, como el melanoma de conjuntiva (Tab. 2.1).

Tabla 2.1: Clasificación de los tumores melanocíticos de la superficie ocular

Benignos	Precancerosos	Malignos
Nevus sin atipia	Nevus con atipia	Melanoma
Pigmentación racial	Melanosis adquirida primaria con atipia	
Melanocitosis ocular		
Melanosis adquirida secundaria		
Melanosis adquirida primaria sin atipia		

La identificación clínica e histopatológica de estos tumores es importante para un diagnóstico y tratamiento adecuados (Jakobiec et al., 1989; Shields et al., 2004).

“The failure to diagnose accurately and to treat promptly certain flat, conjunctival pigmented lesions may result in melanoma, which may be fatal in as many as 25 % of cases.”(Jakobiec et al., 1989, pág. 148).

Tumores melanocíticos benignos

Nevus sin atipias

Los nevus sin atipias son las lesiones melanocíticas más comunes de la conjuntiva. Se manifiestan clínicamente durante la infancia como una tumoración circunscrita, plana o ligeramente elevada y poco pigmentada en la conjuntiva bulbar interpalpebral; 30 % son lesiones no pigmentadas según Jakobiec et al., (1989), Folberg et al., (1989) y Font et al., (2006). Durante la segunda década de la vida suelen pigmentarse y aparecen quistes, momento en que el paciente acude a la consulta. A partir de esta etapa, los nevus suelen permanecer estables, por lo que cualquier cambio en el tamaño, coloración, bordes o apariencia debe hacer sospechar una transformación maligna a melanoma, siendo entonces necesaria su exéresis (Fig.2.1). El riesgo de malignización de estas lesiones es menor del 1 %. Son excepcionales en los fondos de saco y en la conjuntiva tarsal, por lo que cualquier lesión en estas localizaciones debe ser considerada un melanoma o precursor y debe biopsiarse. Histopatológicamente sufren cambios evolutivos que se reflejan en los cambios clínicos descritos. En la fase inicial los nidos de células névicas se encuentran en la capa basal. A medida que va evolucionando, estos nidos celulares penetran en el estroma, arrastrando células epiteliales que pueden formar pseudoquistes, para terminar localizándose exclusivamente en el tejido subconjuntival (Fig.2.1b) (Shields et al., 1997b; Damato 2000; Font et al., 2006).

Pigmentación racial

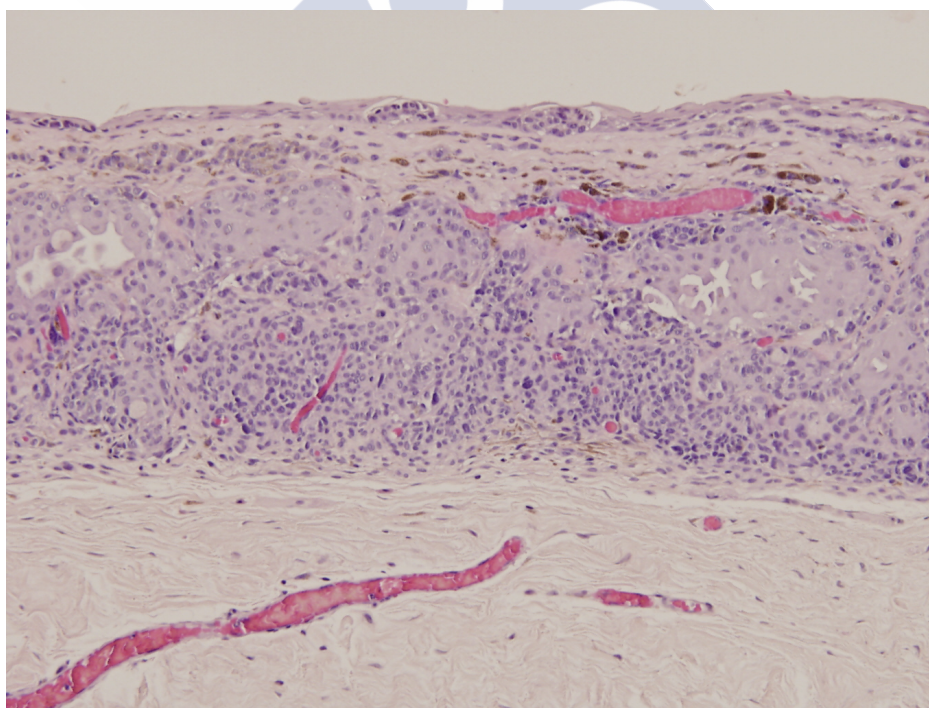
La pigmentación racial la encontramos en la conjuntiva de individuos de raza negra o pigmentación oscura. Este pigmento es más prominente en la fisura interpalpebral y suele ser bilateral. Se moviliza sobre la superficie del globo ocular, y puede ser marcado en el limbo, extendiéndose incluso a la córnea periférica. Histopatológicamente se caracteriza por una hiperpigmentación uniforme de la capa basal del epitelio conjuntival.

Melanocitosis ocular

La melanocitosis ocular es el resultado de la migración incompleta de los melanocitos desde la cresta neural, que no alcanzan la conjuntiva, y pueden aparecer en la úvea, la esclera, la epiesclera, el nervio óptico, las meninges, y la dermis del



(a) Nevus de conjuntiva con quistes y coloración heterogénea.



(b) Corte histopatológico de nevus conjuntival teñido con HE (aumento de objetivo, 10x).

Figura 2.1: Aspecto clínico e histopatológico de nevus de conjuntiva.

párpado. Clínicamente, es unilateral, y se presenta como una pigmentación difusa gris-azulada epiescleral; los bordes de la pigmentación no se mueven con la conjuntiva, son espiculados y los melanocitos rodean y dibujan los linfáticos y vasos sanguíneos. La úvea y el iris ipsilateral suelen tener una coloración más oscura produciendo heterocromía tanto de iris como del fondo de ojo. Histológicamente, los melanocitos están pigmentados de forma uniforme pero no intensamente, y se sitúan generalmente en la esclera y epiesclera. Esta entidad presenta un riesgo mayor para el desarrollo de glaucoma y de melanoma de órbita y de úvea (1/400), no así para melanoma de conjuntiva (Singh et al., 1998; López-Caballero et al., 2003).

Melanosis adquirida Secundaria

La melanosis adquirida secundaria es el resultado del aumento de pigmentación conjuntival secundario a diferentes causas: enfermedades metabólicas, depósitos por drogas instiladas tópicamente, irradiación, inflamación, cambios hormonales, trastornos conjuntivales crónicos. No predispone al desarrollo de melanoma. Histológicamente los melanocitos normales del epitelio se estimulan, proliferan y producen melanina.

Lesiones melanocíticas precancerosas

Nevus con atipia

Los nevus con atipia son lesiones benignas cuyas células pueden sufrir una transformación maligna, generalmente en la vida adulta, asociada a cambios en la morfología clínica que sin tratamiento suelen evolucionar a melanoma (Folberg et al., 1989).

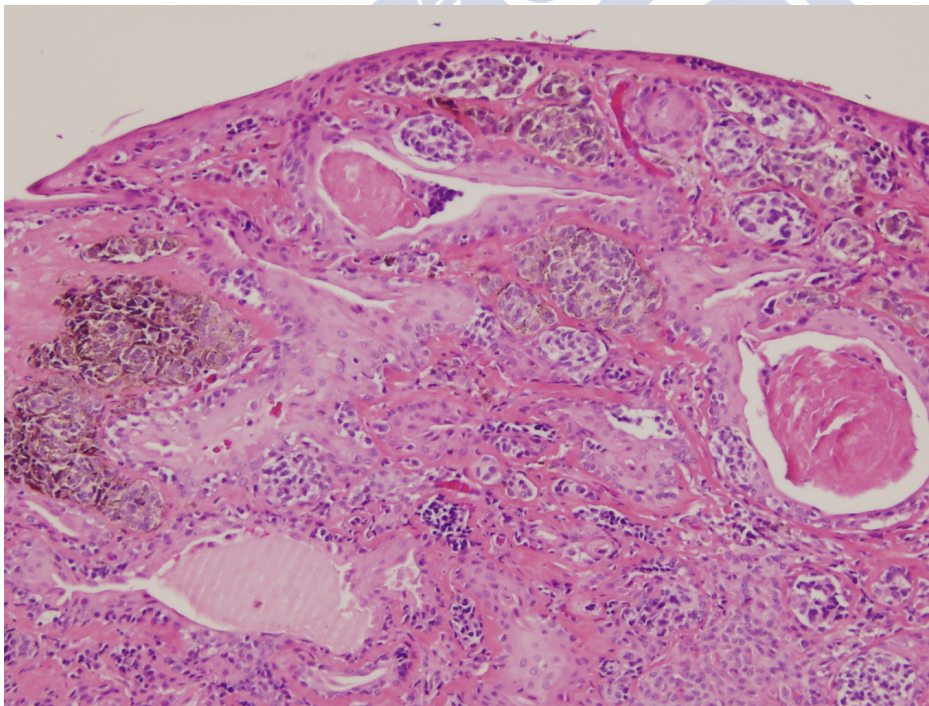
Melanosis adquirida Primaria

La melanosis adquirida primaria (MAP) es una proliferación melanocítica en el epitelio de la conjuntiva. Con frecuencia aparece de forma unilateral y afecta a individuos de raza blanca o piel clara, en la edad media de la vida. Clínicamente puede ser difícil distinguirla de un melanoma. Se presenta como una pigmentación sutil, multicéntrica y unilateral extendida por toda la conjuntiva incluyendo fondos de saco y conjuntiva tarsal. Habitualmente es plana, a diferencia de los nevus, y cuando deja de serlo, es un signo de malignización. La coloración es irregular, variando desde la falta de pigmentación hasta marrón oscuro. Su evolución es impredecible; puede regresar, permanecer estacionaria o progresar a melanoma maligno conjuntival (Fig. 2.2).

Histopatológicamente se clasifica en MAP sin atipia y con atipia. El primer grupo se refiere a hiperpigmentación o hiperplasia melanocítica limitada a la capa basal del epitelio. Esta diferenciación tiene importancia pronóstica debido a que la MAP con atipia tiene un riesgo de progresión a melanoma aproximadamente de 70–90 %, mientras que la MAP sin atipia tiene un riesgo de malignización mucho menor, en torno al 20 %.



(a) Melanosis adquirida primaria de conjuntiva con afectación de los cuatro cuadrantes



(b) Microcopía óptica (tinción HE, aumento de objetivo, 10x) de melanosis adquirida primaria de conjuntiva.

Tumores melanocíticos malignos

Melanoma

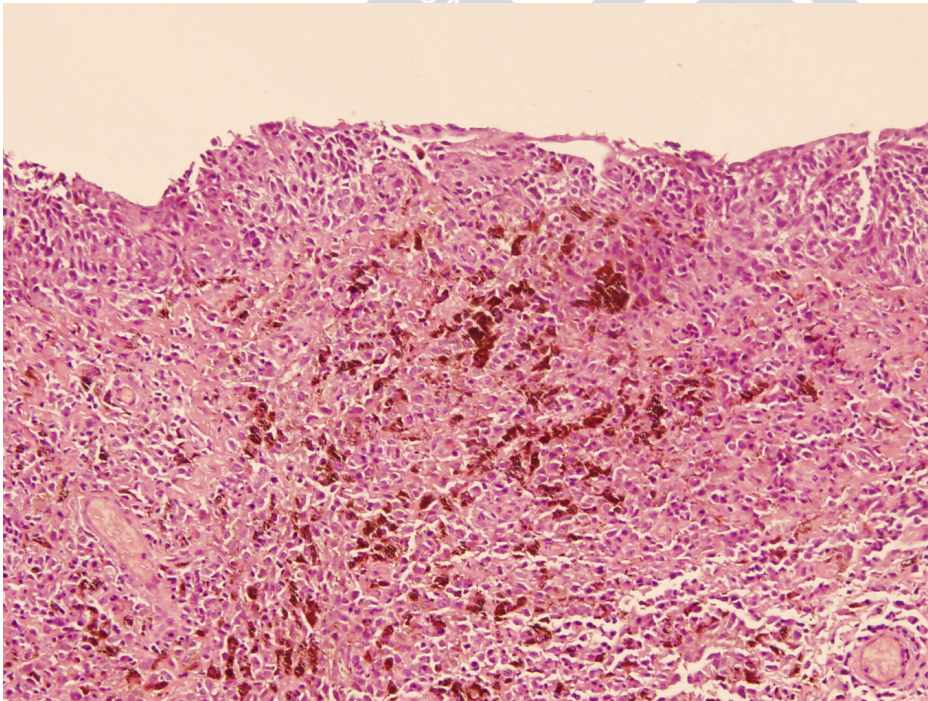
El melanoma conjuntival es una neoplasia potencialmente letal con una incidencia estimada de 0,02 a 0,05 casos por 100.000 habitantes/año en poblaciones caucásicas (Knop y Knop 2000). Representa el 2 % de los tumores malignos oculares y su patogenia presenta cierta controversia. En un 75 % de los casos se origina a partir de una MAP con atipia, pero también puede originarse de un nevus previo (20–30 %) o aparecer de novo (5–10 %) sin ninguna lesión preexistente (Paridaens et al., 1994; Seregard 1998; Shields 2000). Desde el punto de vista clínico, suele aparecer como una masa elevada, variablemente pigmentada, con signos asociados de MAP o historia de nevus, que se localiza en limbo, conjuntiva bulbar, fórnix o conjuntiva palpebral (Fig. 2.3). La inmunohistoquímica (IHQ) para proteína S-100 y HMB-45 puede ayudar a diagnosticar casos indiferenciados y amelanóticos (Paridaens et al., 1994; Singh et al., 1998; Font et al., 2006).

A pesar de un tratamiento adecuado, el riesgo de recurrencia y metástasis a distancia es muy elevado (Seregard 1998; Shields 2000), por lo que es importante un seguimiento adecuado. Las metástasis se localizan inicialmente en los nódulos linfáticos regionales, sin embargo, también se produce diseminación a distancia por vía hematogena, no existiendo en estos casos tratamiento eficaz y siendo el tiempo de supervivencia relativamente corto. Los factores pronósticos más importantes son el espesor del tumor, la localización palpebral o en carúncula, la invasión linfática, el índice de proliferación elevado, el patrón histológico pagetoide y las recurrencias (Jakobiec et al., 1989; Paridaens et al., 1994; Seregard 1998; Font et al., 2006).

Para llevar a cabo un correcto tratamiento de los tumores melanocíticos es preciso realizar un buen diagnóstico clínico e histopatológico. La mayor parte de las lesiones benignas solo requieren seguimiento periódico. Los nevus por debajo de los 40 años no requieren tratamiento excepto por motivos estéticos, o procesos inflamatorios de repetición, ya que el melanoma es extremadamente raro en estas edades. Incluso en personas mayores, solo en el caso de crecimiento o cambios en el color y en la morfología, debe realizarse la extirpación de la lesión para descartar transformación maligna.



(a) Tumoración nodular con pigmentación irregular y vascularización superficial que afecta borde palpebral y carúncula.



(b) Corte histopatológico teñido con HE de melanoma conjuntival (aumento de objetivo, 10x).

El manejo de la MAP depende de la extensión de la lesión. Si es pequeña, ocupando menos de un cuarto de conjuntiva, se debe plantear su extirpación completa. Si la lesión es muy extensa, se deben extirpar las áreas engrosadas (sospechosas de melanoma) y realizar biopsias en mapa de las zonas de MAP no extirpadas para determinar su riesgo de progresión a melanoma conjuntival. Incluso, deben realizarse biopsias en zonas aparentemente no involucradas debido a la presencia de MAP sin pigmento. Si la extirpación completa de las zonas con atipia no es posible o aparecen recurrencias, se deben utilizar terapias adyuvantes como la crioterapia intraoperatoria o tratamiento quimioterápico tópico post-quirúrgico de los que el más probado es la mitomicina C (MMC) (Frucht-Pery y Peer 1996; Seregard 1998; Demirci et al., 2000; Becerra et al., 2005).

En el melanoma de conjuntiva, el tratamiento primario del tumor es la extirpación quirúrgica completa, con 3–5 mm de márgenes libres con crioterapia intraoperatoria adyuvante. Cualquiera que sea el origen del melanoma, se debe de tratar de erradicar combinando las terapias necesarias en el primer abordaje para prevenir las recurrencias, ya que éstas empeoran el pronóstico vital del paciente. En el seguimiento, los pacientes deben ser cuidadosamente revisados en la consulta, explorando la superficie entera de la conjuntiva exhaustivamente y palpando los ganglios preauriculares y cervicales. Si se identifica invasión ipsilateral preauricular, submandibular y/o cervical, se recomienda la realización de una limpieza ganglionar regional no radical. Si se objetiva invasión orbitaria y/o intraocular, el tratamiento primario generalmente es la exenteración. La enucleación no se suele realizar, ya que deja la conjuntiva, que es el lugar del origen del tumor y puede ser fuente de nuevas recurrencias.

Neoplasias estromales

El estroma conjuntival contiene diferentes estructuras (tejido vascular, fibroso, neural, vasos linfáticos, y otros); pudiendo dar lugar cada una de ellas a lesiones tumorales de tejidos blandos, benignas y malignas (Tab. 2.2).

Tabla 2.2: Clasificación de las neoplasias estromales

Elementos estromales conjuntivales	Tumores benignos	Tumores Malignos
Histiocitos	Xantoma Retículo-histiocitoma Xantogranuloma juvenil	
Vascular	Granuloma Píogénico Hemangioma Hemangiopericitoma Variz	Sarcoma de Kaposi Linfangioma Maligno
Fibras	Fibroma Histiocitoma fibroso benigno Fascitis nodular	Histiocitoma fibroso maligno
Tejido Linfoide	Hiperplasia linfoide reactiva Hiperplasia linfoide atípica	Linfoma
Tejido Adiposo	Lipoma Hernia grasa orbitaria	Liposarcoma
Tejido Neural	Neurofibroma Neurilemoma (Schwannoma) Tumor de células granulares	
Tejido Mixoide	Mixoma	
Tejido Miogénico	Miofibromatosis infantil	Rabdomiosarcoma Leiomioma
Coristoma	Dermoide Dermolipoma Coristoma óseo Coristoma glándula lagrimal Coristoma complejo	
Tumor Metastásico		Carcinoma metastásico

Tumores histiocíticos

Xantoma

Los xantomas son más frecuentes a nivel dérmico, cercanos a superficies extensoras. Los xantomas conjuntivales aparecen como formaciones blandas subepiteliales y amarillentas a nivel epibulbar. Pueden presentarse de forma bilateral en el caso de xantomas diseminados. En la histopatología se observa un infiltrado subepitelial de histiocitos cargados de lípidos, eosinófilos y células gigantes de Touton.

Reticulohistiocitoma

El reticulohistiocitoma aparece como una masa rosa vascular a nivel limbar en el adulto, compuesta por histiocitos grandes con citoplasma granular. Son lesiones raras a nivel conjuntival y con frecuencia forman parte de reticulohistiocitosis sistémicas multicéntricas.

Xantogranuloma Juvenil

El xantogranuloma juvenil aparece a nivel conjuntival, como una masa estromal de color naranja-rosa, que afecta típicamente a adultos jóvenes. El diagnóstico es clínico, pero el estudio histopatológico muestra histiocitos con células de Touton. En la mayoría de los casos no se precisa tratamiento y responden a corticoides tópicos.

Tumores vasculares

Granuloma piogénico

El granuloma piógeno es una proliferación fibrovascular secundaria a un proceso inflamatorio local o a un traumatismo (quirúrgico o no quirúrgico). Clínicamente aparece como una lesión pedunculada de aspecto papilomatoso y de color sonrosado. Histopatológicamente se observa un tejido de granulación compuesto por un estroma laxo con numerosos capilares que se distribuyen de forma radial y una mezcla de células inflamatorias. Algunos casos responden a tratamiento corticoideo tópico, pero en otros es necesaria la extirpación quirúrgica. Si recidivan, se puede aplicar radioterapia.

Hemangioma

El hemangioma es una proliferación vascular benigna que se presenta generalmente en la infancia, unas semanas después del nacimiento, como una masa estromal rojiza, a veces asociada a un hemangioma capilar cutáneo u orbitario. De forma similar al cutáneo, el hemangioma conjuntival puede aumentar su tamaño durante meses y después involucionar espontáneamente. El tratamiento consiste en observación en la mayoría de los casos y en ocasiones resección quirúrgica o corticoides tópicos o sistémicos.

Hemangiopericitoma

El hemangiopericitoma es un tumor compuesto por pericitos que rodean los vasos sanguíneos. Clínicamente se manifiesta como una masa roja conjuntival que se origina en el estroma. Se trata mediante extirpación completa con márgenes libres.

Variz

Las varices son malformaciones venosas que se observan a nivel orbitario, y más raramente a nivel conjuntival. Clínicamente aparece una masa de venas dilatadas que aumenta de tamaño con maniobras de Valsalva. El tratamiento incluye observación, compresas frías, y antiagregantes plaquetarios. La resección quirúrgica se debe realizar de forma cautelosa, ya que existe riesgo de hemorragia masiva durante la cirugía.

Linfangiectasia/Linfangioma

Las linfangiectasias son dilataciones de los vasos linfáticos de la conjuntiva, tanto bulbar como tarsal. El linfangioma puede aparecer como una lesión aislada o más frecuentemente representa un componente superficial de un linfangioma profundo orbitario difuso. Se hace evidente clínicamente en la primera década de la vida como una masa irregular, rojiza compuesta de numerosos vasos linfáticos dilatados que pueden contener sangre (quistes de chocolate) y progresan lentamente. Se exacerban con procesos catarrales. El tratamiento es complicado porque la resección quirúrgica o la radioterapia pueden no erradicar completamente la masa.

Sarcoma de Kaposi

El sarcoma de Kaposi es un tumor maligno raro, más conocido como neoplasia cutánea, típica de ancianos inmunodeprimidos y judíos–mediterráneos. Clínicamente se manifiesta como nódulos o manchas rojo–azuladas en la piel de las piernas en los pacientes con la forma clásica de la enfermedad, pero en aquéllos con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) las lesiones aparecen en la parte superior del cuerpo, en la cara, los párpados, y la afectación conjuntival puede ser el primer signo clínico de SIDA, simulando una conjuntivitis hemorrágica (Pantanowitz y Dezube 2008). El estudio histopatológico muestra células fusiformes de núcleo oval y numerosos capilares. Responden moderadamente a quimioterapia y a dosis bajas de radioterapia.

Tumores fibrosos

Fibroma

Los fibromas son masas blanquecinas estromales que raramente aparecen a nivel conjuntival. Están formados por fibroblastos y colágeno agrupados de forma compacta. Pueden ser nodulares o difusos y generalmente se desarrollan en la edad adulta. Se tratan mediante escisión quirúrgica.

Fascitis Nodular

La fascitis nodular es una proliferación benigna de tejido conectivo que ocurre con mayor frecuencia en la piel. Desde el punto de vista clínico e histopatológico recuerda a un fibrosarcoma. Aparece como una masa blanquecina en la fascia de Tenon. La extirpación completa de la lesión evita recurrencias.

Tumores linfoides

Los tumores linfoides pueden aparecer en la conjuntiva como lesiones aisladas o ser una manifestación de un linfoma ocular. Clínicamente tanto las lesiones benignas como las malignas tienden a tener una coloración salmón, y suelen ser lesiones subconjuntivales, planas con superficie lisa y de consistencia blanda. Macroscópicamente es imposible diferenciar entre lesiones benignas (hiperplasia reactiva linfoide) y malignas, por lo que es imprescindible la realización de una biopsia, y si se confirma el diagnóstico de lesión maligna, la realización de

una exploración completa del paciente para excluir la presencia de enfermedad sistémica.

El tratamiento adecuado si hay linfoma sistémico es la quimioterapia sistémica (la afectación conjuntival responderá de la misma forma que las zonas afectadas del resto del organismo). Si no hay afectación sistémica y la lesión está localizada en la conjuntiva se puede realizar extirpación quirúrgica, radioterapia externa si la lesión es extensa o se sospecha afectación orbitaria (20–40 Gy), inyecciones locales de Interferon $\alpha 2b$ (IFN $\alpha 2b$) e incluso observación (Acero-Peña et al., 2000; Shields et al., 2001a; Blasi et al., 2001).

Linfomas

Los linfomas del ojo y anejos oculares suponen del 2 al 10 % de los linfomas extraganglionares (son raros, y comprenden un espectro que abarca desde la hiperplasia reactiva linfoide al linfoma maligno basados siempre en características microscópicas).

Los linfomas conjuntivales suponen entre el 20 y el 30 % de los tumores linfoides del ojo y anejos, y tan solo un 20–30 % de los casos se encuentran asociados a enfermedad sistémica (que puede aparecer años después), siendo bilaterales en casi el 40 % de los casos (Shields et al., 2001a). La mayoría de los linfomas de los anejos oculares son de células B tipo no Hodking de bajo grado, y la mayor parte de los de conjuntiva son de tipo tejido linfoide asociado a la mucosa (MALT) (Linfoma B de bajo grado del tejido linfoide asociado a mucosas) situándose en el extremo más favorable de los linfomas malignos, y en muchas ocasiones, en un terreno difícil para el diagnóstico diferencial, no existiendo una clara línea de corte entre el linfoma maligno de bajo grado y la hiperplasia reactiva linfoide.

Tumores adiposos

Lipoma

Los lipomas son poco frecuentes a nivel conjuntival, y generalmente aparecen en adultos como una masa estromal amarilla–rosa. Histopatológicamente presentan células adiposas sin atipias y con vacuolas lipídicas de gran tamaño.

Herniación grasa orbitaria

Ocasionalmente, la grasa orbitaria se presenta en la conjuntiva como una herniación superotemporal. Normalmente aparece de forma bilateral y pone en evidencia una deficiencia en tejido conectivo orbitario que impide mantener en su localización la grasa orbitaria. Clínicamente la masa está por debajo de la cápsula de Tenon y digitalmente se puede reposicionar, aunque solo de forma temporal. El manejo es la observación, a menos que cause síntomas, como ojo seco por malposición palpebral. En estos casos se realiza una resección de la grasa herniada y una resuspensión de la grasa en la órbita. En el estudio histopatológico, se observan células lipídicas. Daniel et al., (2003) describieron una serie de pacientes con herniación grasa orbitaria típica, que presentaba pleomorfismo celular, típico del lipoma. Esto habla a favor de la superposición clínica de estos cuadros.

Liposarcoma

Los liposarcomas son lesiones clínicamente similares a los lipomas, que solo pueden diferenciarse mediante el estudio histopatológico de los mismos. Se observan células lipídicas estrelladas y células en anillo de sello, con pleomorfismo y atipias.

Tumores neurales

Los tumores neurales de la conjuntiva son muy poco frecuentes. Tienden a manifestarse como lesiones más amarillentas que los tumores fibrosos.

Neurofibroma

Los neurofibromas pueden aparecer a nivel conjuntival como masas solitarias, de forma difusa o plexiforme. El tumor solitario es una masa estromal elevada de crecimiento lento cuyo tratamiento es la resección quirúrgica. La forma plexiforme es de manejo quirúrgico difícil (Shields y Shields 2004).

Schwannoma

Los schwannomas son proliferaciones benignas de células de Schwann a nivel de los nervios periféricos. Clínicamente se manifiesta como una masa nodular

estromal rosa–amarillenta. La escisión completa reduce el riesgo de recurrencia.

Tumor de células granulares

Los tumores de células granulares son lesiones benignas de aspecto blando, vascular y rosado, localizadas a nivel estromal. Histopatológicamente compuestos por grandes células con granulación prominente en el citoplasma. Se recomienda su extirpación completa.

Tumores mixoides

Mixoma

Los mixomas son masas solitarias, de color rosa–naranja intraestromal de crecimiento lento y móvil. Se localizan generalmente en la conjuntiva bulbar temporal. Son lesiones hipocelulares compuestas por células fusiformes y estrelladas entremezcladas en un estroma laxo (Eagle et al., 1995).

Tumores miogénicos

Rabdomiosarcoma

El rabdomiosarcoma orbitario es generalmente considerado como un tumor de órbita primario; sin embargo, puede ocurrir primariamente a nivel conjuntival. Cuando su localización es conjuntival aparece como una lesión rosácea, vascular de crecimiento muy rápido. Se recomienda realizar biopsia escisional completa con tratamiento coadyuvante de quimioterapia o radioterapia (Shields et al., 2001b).

Coristomas

Los coristomas son malformaciones congénitas compuestas por tejido normal en localización anómala. Son los tumores orbitarios y perioculares más frecuentes en niños. Los coristomas epibulbares afectan la córnea, el limbo y el espacio subconjuntival. En ocasiones aparecen asociados a colobomas, síndrome de Goldenhar y síndrome del nevus epidérmico (Mansour et al., 1989). En estos casos suelen ser bilaterales y más extensos.

Los coristomas conjuntivales incluyen dermoides limbares, dermolipomas, coristomas óseos y ectopia de la glándula lagrimal (Jakobiec et al., 2009).

Los coristomas complejos incluyen tejidos de distintos tipos de coristomas y presentan una peculiar asociación con el nevus sebáceo de Jadassohn, que incluye nevus en la región facial. También pueden asociarse a hallazgos neurológicos como quistes aracnoideos, retraso mental y atrofia cerebral (Shields et al., 1997a). La cirugía está indicada para preservar la visión o como herramienta estética.

Tumores metastásicos

Carcinoma metastásico

Los tumores conjuntivales raramente metastatizan, sin embargo, se han observado metástasis conjuntivales de carcinomas de mama, melanomas cutáneos, y otros tumores primarios. El carcinoma metastásico aparece como una o varias lesiones tumorales de aspecto rosado, vascularizadas a nivel del estroma conjuntival. El melanoma metastásico en conjuntiva suele ser pigmentado.





3

Neoplasias escamosas de la superficie ocular

Las Neoplasias Escamosas de la Superficie Ocular han sufrido a lo largo de la historia cambios en lo que se refiere a su nomenclatura. Fueron descritas por Von Graefe en 1860 con el término de epitelioma. Nicholls en 1939 hizo una revisión de una entidad denominada placa epitelial, caracterizada por hiperplasia local y cornificación. McGavie (1942) describió cinco lesiones que presentaban cambios histopatológicos similares a la enfermedad de Bowen cutánea, poiquilocarinosis sin afectación de la membrana basal, sugiriendo los términos “epitelioma intraepitelial” (enfermedad de Bowen) y “epitelioma Bowenoide” para describir las lesiones que no cumplían estrictamente las características de la descripción original de Bowen. En este mismo año, Ash y Wilder (1942) publicaron una serie de 93 tumores epiteliales del limbo, que incluían 17 denominados epidermalización y disqueratosis, 48 carcinomas y 28 papilomas. Janert en 1956 hace una diferenciación entre la enfermedad de Bowen como una hiperplasia epitelial con disqueratosis y la leucoplaquia con hiperqueratosis. Lugossy, Winter y Kleh prefirieron el término epitelioma precanceroso del limbo (Winter y Kleh 1960). Pizzarello y Jakobiec (1978) proponen el término de neoplasia intraepitelial (NIE) conjuntival y las clasifican en displasias leves, moderadas y severas según la extensión de la enfermedad. Waring et al., (1984) ampliaron el término para incluir la córnea y Erie et al., (1986) lo hicieron más extensivo, para incluir también la neoplasia invasiva conjuntival y corneal. Lee y Hirst (1995) las denominaron OSSN.

Actualmente se propone la utilización del término *Ocular Surface Squamous Neoplasia*, para englobar las neoplasias que afectan a la conjuntiva y a la córnea, incluyendo todo un espectro de lesiones, desde las displasias leves hasta los carcinomas invasivos. Para denominar las entidades histopatológicas individuales (lesiones benignas, preinvasivas e invasivas) se utilizan los términos displasia de células epiteliales, carcinoma in situ (CIS) y carcinoma invasivo (Basti y Maesai 2003).

3.1 Aspectos epidemiológicos

Las OSSN son tumores poco frecuentes. Han sido estudiados de forma más exhaustiva en zonas subtropicales como África subsahariana y Australia donde su incidencia es más elevada. Templeton (1967) estudió grupos tribales en Uganda entre 1961–1966 encontrando una media de incidencia de 0,13/100.000/año. Estudios más recientes evaluaron la incidencia de las OSSN entre 1995–1997 observando que llegaba incluso a triplicarse en estas mismas regiones (Wabinga et al., 2000). Ateenyi-Agaba (1995) informó del aumento de la incidencia de carcinomas escamosos invasivos en Kampala, Uganda, desde 6/1.000.000/año en 1988 a 35/1.000.000/año en 1992. El 75 % de estos pacientes estaban infectados por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), resultando el riesgo relativo de desarrollar carcinoma escamoso invasivo en infectados por VIH entorno a 13,0 (Ateenyi-Agaba 1995; Kiire y Dhillon 2006). En Brisbane (Australia) en el período entre 1980–1989 se estimó una incidencia de 1,9/100.000/año (Lee y Hirst 1992), no observándose un aumento significativo del número de casos al año en los últimos diez años. Este índice es mucho más bajo que el del carcinoma de células escamosas de la piel (600/100.000/año) para la misma área geográfica.

Son neoplasias poco frecuentes en comparación con otros tumores oculo-orbitarios. El número de casos de OSSN relativo a todos los tumores oculo-orbitarios oscila en un rango entre el 4 % y el 29 %, con una media del 14 %. Sin embargo, es el tumor más frecuente de la SO y en población de edad avanzada; es el tercer tumor ocular más frecuente tras el melanoma y el linfoma (Rodríguez-Ares et al., 2004).

3.1. Aspectos epidemiológicos

El perfil demográfico de los pacientes con OSSN parece ser diferente entre países desarrollados y países en vías de desarrollo. En los Estados Unidos de América y en Australia, los pacientes son típicamente varones de raza caucásica, en la sexta década de la vida (Tabin et al., 1997; Sun et al., 1997; Tunc et al., 1999; McKelvie et al., 2002; Rudkin et al., 2011); en África, los estudios revelan mayor incidencia en individuos de piel fuertemente pigmentada, sin predominio de sexo, en la tercera década de la vida (Waddell et al., 1996; Kaimbo et al., 1998; Mahomed y Chetty 2002; Newton et al., 2002; Porges y Groisman 2003; Pola et al., 2003). Además, la evolución de la enfermedad se muestra más indolente en los Estados Unidos de América que en África, donde se han observado tumores mucho más agresivos. Este mismo comportamiento se ha observado también en pacientes con xeroderma pigmentoso (XP) y en infectados por el VIH. La explicación a las distintas manifestaciones epidemiológicas de la enfermedad, podría residir en la situación inmunológica diferente de las poblaciones a estudio. En los Estados Unidos de América una minoría de los pacientes con OSSN está inmunocomprometida, mientras en Malawia, Waddell et al., (2010) encontraron que el 78 % de los pacientes con OSSN eran VIH+. Diferentes estudios han descrito el predominio en raza caucásica (90–100 %), siendo la edad de comienzo más temprana en latitudes bajas (53 años en poblaciones que viven en latitudes inferiores a 30° y 64 años en poblaciones que viven en latitudes más altas (45°). Poblaciones caucásicas en latitudes bajas tienen por lo tanto un particular riesgo ocular.

Gichuhi et al., (2013) determinaron que la mayor incidencia de OSSN se alcanzaba en regiones del hemisferio sur, inferiores a 16° de latitud (Fig. 3.1). La incidencia mundial es de 0,18 y 0,08 casos/100.000/año para hombres y mujeres respectivamente, encontrándose la mayor incidencia en África (1,38 y 1,18 casos/100.000/año en hombres y mujeres). Lee y Hirst (1992) encontraron un predominio de casos de OSSN en varones. Tunc et al., (1999) analizaron 64 casos de OSSN y encontraron que la edad media de sus pacientes era de 64 años, de los cuales el 70 % eran varones. Las OSSN afectan predominantemente a varones de edad avanzada (76 %, rango 56-97 %), siendo la media de edad del CIS unos 5-9 años menor que la del carcinoma de células escamosas invasivo. Estos hallazgos sugieren la progresión de estas lesiones en el tiempo, desde displasia hacia CIS y carcinoma invasivo (Erie et al., 1986).

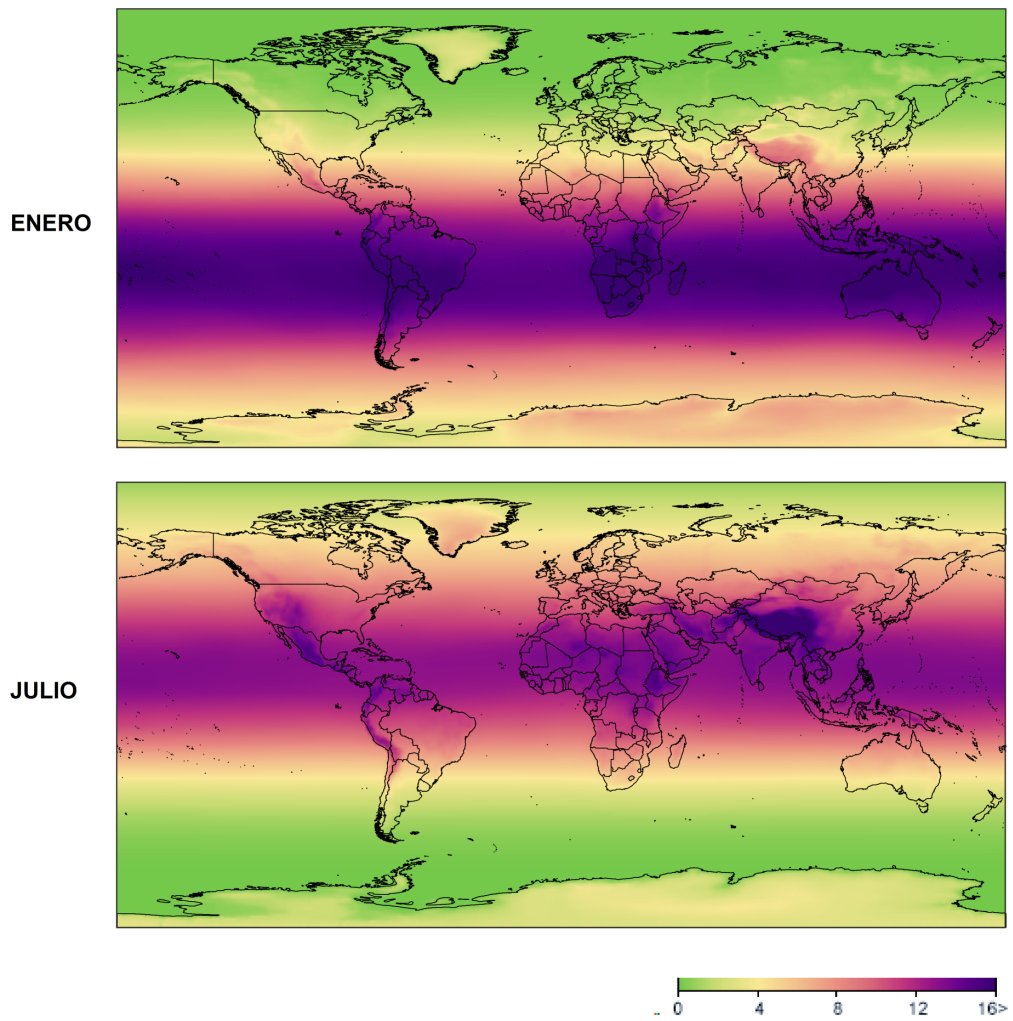


Figura 3.1: Mapa del índice UV. Fuente de datos: NASA Earth Observatory (Jesse Allen; Jerry Ziemke OMI).

3.2 Aspectos etiopatogénicos

La etiopatogenia de las OSSN no está clara. Muchos son los posibles factores y mecanismos que explicarían o estarían implicados en su aparición y desarrollo. Existe una maduración anormal del epitelio corneal y conjuntival como resultado de la combinación de varios agentes externos, tales como, la exposición a radiación ultravioleta-B (UV-B), el VIH y el VPH. Revisiones sistemáticas y meta-análisis ponen de manifiesto que los principales factores de riesgo son la UV-B, el VIH y el VPH; mientras el déficit de vitamina A es un potencial factor de riesgo (Gichuhi et al., 2013; Carreira et al., 2013). Los principales mecanismos etiopatogénicos de estas neoplasias podemos englobarlos en aquéllos que producen daño en el ácido desoxirribonucleico (ADN), aquéllos que ocasionan fallos en los mecanismos de reparación del ADN y aquéllos que alteran la respuesta inmunitaria.

Daño en el ácido desoxirribonucleico: cambios genéticos y epigenéticos

El daño del ADN puede ser genético o epigenético en función de si produce o no cambios en la secuencia de nucleótidos. Afecta a la estabilidad del genoma y a la función de las células madre que conduce a la aparición de neoplasias.

El mayor daño producido en el ADN a nivel de la SO, es probablemente el causado por la exposición a la radiación UV-B, aunque el VPH podría jugar también un papel a este nivel. La exposición a la radiación UV-B ha sido considerada en muchos estudios como el factor etiológico más importante en el desarrollo de OSSN ya que causa daño directamente sobre el ADN celular. La baja incidencia en Europa y América del Norte y la alta incidencia en África subsahariana y Australia, donde la población está más expuestas a radiación solar, sugiere un importante papel de la radiación UV-B en el desarrollo de estas lesiones. Lee y Hirst (1992) observaron una relación entre el tiempo de exposición a radiación solar y el riesgo de desarrollar OSSN. Newton et al., (1996) observaron por su parte que la incidencia de neoplasia ocular llegaba hasta un 49 % en regiones situadas en 10° de latitud. McClellan et al., (2013) obtuvieron como resultado en su estudio que la exposición solar es el factor de riesgo principal en la aparición de estas neoplasias en Florida. Se han señalado factores de riesgo que incluyen rasgos

fenotípicos como piel clara, iris claro y propensión a la quemadura solar. Historia de lesiones cutáneas actínicas, tales como la queratosis solar, también muestran una fuerte asociación positiva con el desarrollo de OSSN. Es bien conocido que la radiación ultravioleta (UV) causa daño en el ADN celular del epitelio humano y en la formación de los dímeros de pirimidina. De esta forma, un fallo o un retraso en la reparación del ADN, como ocurre en los pacientes con XP, puede provocar mutaciones somáticas y proliferación de células cancerígenas. La exposición a radiación UV-B reactiva infecciones latentes por VPH (Zhang et al., 1999), VIH (Breuer-McHam et al., 2001), virus varicela zoster (VVZ) (Rice 2011) y virus herpes simple (VHS) (Miller et al., 1993).

El VPH es un virus epiteliotropo y está implicado en la patogenia de varios tipos de carcinomas de células escamosas, como el carcinoma cervical, colorectal, laríngeo, conjuntival, esofágico y vesical (Munoz 2000; Li et al., 2011; Damin et al., 2013; Li et al., 2014; Gichuhi et al., 2013). McDonnell et al., (1987) utilizaron la amplificación genética in vitro con la reacción en cadena de la polimerasa para identificar el ADN del VPH 16 y se evidenció en 37 de las 42 biopsias. Sin embargo, el VPH ha sido también detectado en ojos cuya SO estaba aparentemente sana y en algunos, la infección persiste durante años tras la erradicación exitosa de las OSSN. Odrich et al., (1991) describieron tres pacientes con tumores bilaterales asociados al VPH. Su conclusión fue que la progresión de condición de inflamación conjuntival a condición displásica o neoplásica en la presencia del ADN viral, podría compararse con la evidencia ginecológica de la progresión del condiloma a CIS de cervix. El VPH por sí solo no sería capaz de desarrollar estas neoplasias, pero parece que sí podría hacerlo en combinación, por ejemplo, con la exposición a radiación UV-B. El virus del papiloma (VP) bovino, ha sido también implicado en la neoplasia escamosa bovina. Sin embargo, estudios recientes con sondas de ADN y microscopía electrónica han fracasado en la detección de la implicación directa del ADN del VP bovino. Los resultados concluyeron que el VP bovino puede contribuir a la inducción de lesiones precursoras o eventos que producen la transformación carcinogénica, sin ser relevante en el mantenimiento del tumor. Cómo alcanza el VP inicialmente la conjuntiva no está claro.

3.2. Aspectos etiopatogénicos

La prevalencia del VPH en OSSN es heterogénea, variando ampliamente desde el 0 al 100 %. La infección por VPH está asociada con un aumento en la incidencia de VIH (media OR: 1.96; 95 % CI: 1,55–2,49) (Lissouba et al., 2013).

Fallos en los mecanismos de reparación del ADN

Existen mecanismos de reparación del ADN que actúan específicamente en diferentes fases del ciclo celular. Los mecanismos moleculares que reparan el daño del ADN inducido por la radiación UV, incluyen escisión, reparación de desajuste, reparación de rotura y reparación de uniones cruzadas (Rastogi et al., 2010). Los mecanismos de escisión son los más importantes a la hora de actuar contra lesiones causadas por radiación solar, radiación ionizante y agentes alquilantes.

Alteración de la respuesta inmunitaria

La inmunología tumoral presupone que las células tumorales expresan antígenos que las diferencian de las células no transformadas. De esta manera, existen mecanismos de prevención inmune que actúan eliminando o suprimiendo la infección viral de forma preventiva, controlando el proceso proinflamatorio y de forma selectiva, eliminando específicamente las células que presentan antígenos tumorales o señales moleculares de stress celular antes de que se produzca el daño (Scheirber et al., 2011). Si el sistema inmune no es capaz de controlar el tumor en esta fase, se produce un crecimiento incontrolado de las células dañadas y la expansión tumoral, estando el pronóstico influenciado por la infiltración linfocitaria del tumor. La radiación UV produce una inmunosupresión celular (Clydesdale et al., 2001), siendo la radiación UV-B más potente incluso que la radiación ultravioleta-A (UV-A) (Poon et al., 2005). Este fenómeno se conoce como foto-inmunosupresión, que no está limitado a los tejidos cutáneos expuestos, sino que también afecta a órganos internos (Gibbs y Norval 2013). En la piel, la radiación UV-B estimula la migración de las células de Langerhans de la epidermis regulando la respuesta de las células T, responsables de la supresión inmune a nivel local (Norval et al., 2008; Schwarz y Schwarz 2011).

La infección por VIH, afecta a los linfocitos CD4+, induciendo su apoptosis (Lundin et al., 1987; Cloyd et al., 2001; Alimonti y Gottsch 2003). Un meta-análisis puso en evidencia una mayor incidencia de tumores entre los pacientes infectados por el VIH y los pacientes inmunodeprimidos tras un trasplante, sin embargo, no se observaron diferencias significativas en el riesgo entre los dos grupos, por lo que se sugiere que es la inmunosupresión y no otra acción diferente del VIH la responsable del incremento de riesgo de tumores (Grulich et al., 2007). También se han sugerido otros factores etiológicos como el polvo, el viento, las alteraciones en el cierre palpebral, la exposición a agentes químicos como la trifluridina, arsénico, berilio, el daño de la SO, el déficit de vitamina A, la exposición a productos derivados del petróleo, el tabaco, y otros virus como el VHS de tipo I.

La incidencia de OSSN ha incrementado significativamente desde la erupción de la epidemia de SIDA, especialmente en África subsahariana. En estudios realizados en Uganda, el Congo y Zimbabwe, se vio que la infección por el VIH está fuertemente asociada con un incremento de la incidencia de OSSN. En estos países, las OSSN aparecen en personas más jóvenes y tienden a ser más agresivas (Kaimbo et al., 1998). Aunque la infección por VIH parece ser un claro factor de riesgo por sí solo (Waddell et al., 1996; Newton et al., 2001, 2002), su interacción con la radiación UV-B y el VPH, los cuales son a su vez más frecuentes en África, podría acelerar la aparición de estas lesiones.

La vitamina A ayuda a mantener la integridad de la SO (Kanazawa et al., 2002). Su déficit se ha asociado con metaplasia escamosa conjuntival (McKelvie 2003). Un estudio en Kenia encontró que las mujeres VIH+ tenían una mayor prevalencia de déficit de vitamina A que las mujeres VIH- (Baeten et al., 2002). Se ha sugerido que el déficit de vitamina A podría tener tres efectos: compromiso de la integridad del epitelio de la SO creando microabrasiones que favorecerían la entrada del VPH; inmunodeficiencia mediada por células; y disregulación en la diferenciación de las células madre.

Existe una tendencia clara de las OSSN a localizarse en la región limbar, que es la zona donde se sitúan las células madre que se encargan del recambio epitelial de la conjuntiva y de la córnea. Lee y Hirst (1995) propusieron la zona de transición limbar, la teoría de las células madre para el desarrollo de OSSN. Basándose en el concepto revisado por Tseng (1989) de que las células madre localizadas en la

región limbar tienen característicamente una vida más larga y un mayor potencial para la división celular clonagénica, postularon que alteraciones en esta región anatómica, junto a la influencia de otros factores ambientales como las radiaciones UV-B o el VPH, causarían una anormal maduración del epitelio conjuntival y corneal, dando paso a la formación de OSSN.

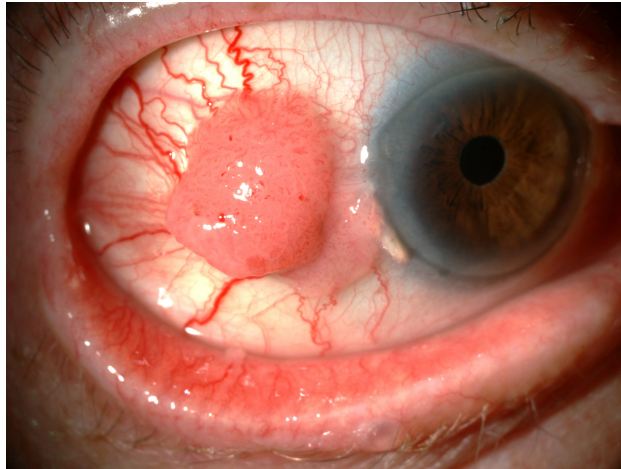
3.3 Aspectos clínicos e histopatológicos

La displasia, el CIS y el carcinoma de células escamosas son difíciles de distinguir solo por el *aspecto clínico*. Son lesiones poco elevadas, de forma variable, relativamente bien delimitadas, acompañadas de vasos sanguíneos nutricios y con una coloración que va de gris-perla a rojo-grisácea dependiendo de la vascularización tumoral. La localización más frecuente es en la zona del limbo nasal o temporal en la fisura interpalpebral habitualmente de forma unilateral (McKelvie et al., 2002; Shields y Shields 2004). Las lesiones que afectan solo a la conjuntiva o solo a la córnea son raras.

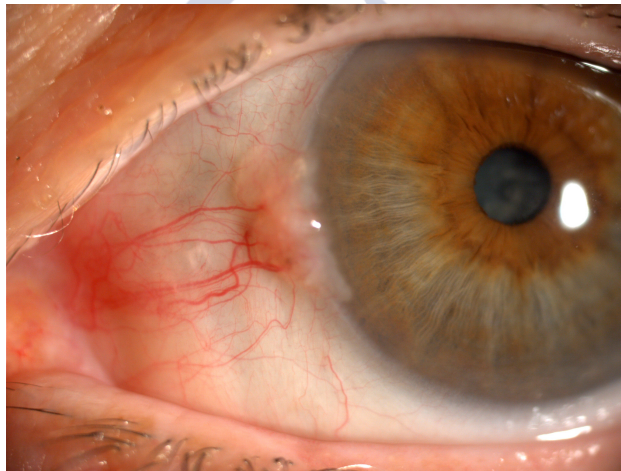
En la Figura 3.2 se observan los distintos aspectos clínicos de las OSSN según la clasificación de Pizzarello y Jakobiec (1978) y Erie et al., (1986): papilomatoso, gelatinoso y leucoplásico. En las lesiones papilomatosas las células displásicas albergan en el papiloma sésil. Las lesiones gelatinosas (Fig. 3.2b), con el característico ramillete de vasos superficiales, son la apariencia más frecuente. Aparecen como consecuencia de un proceso de acantosis y displasia. En las leucoplásicas se observan procesos de hiperqueratosis, paraqueratosis y disqueratosis.

La presentación puede ser nodular o difusa. La forma nodular es circunscrita, rápidamente progresiva, invade la conjuntiva adyacente y tiene tendencia a metastatizar en los ganglios linfáticos regionales. La forma difusa es la menos común y es muy difícil de diagnosticar en fases iniciales, simulando una conjuntivitis crónica (Fig. 3.3).

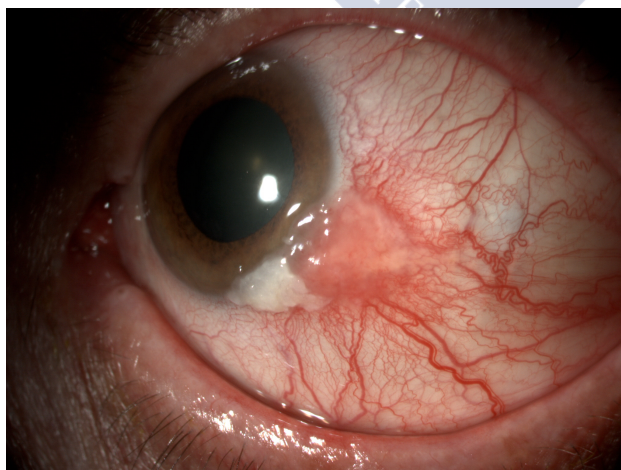
Esta entidad se presenta como un crecimiento en la SO, con sensación de cuerpo extraño, ojo rojo o irritación. La disminución de agudeza visual es menos común. No existe correlación entre la severidad de la lesión y la rapidez de presentación de los síntomas. La mayoría de los pacientes acuden a la consulta en los primeros seis meses tras la presentación. Las lesiones grandes con adherencia a tejidos



(a) Papilomatoso



(b) Gelatinoso



(c) Leucoplásico

Figura 3.2: Clasificación de las OSSN según su aspecto clínico.

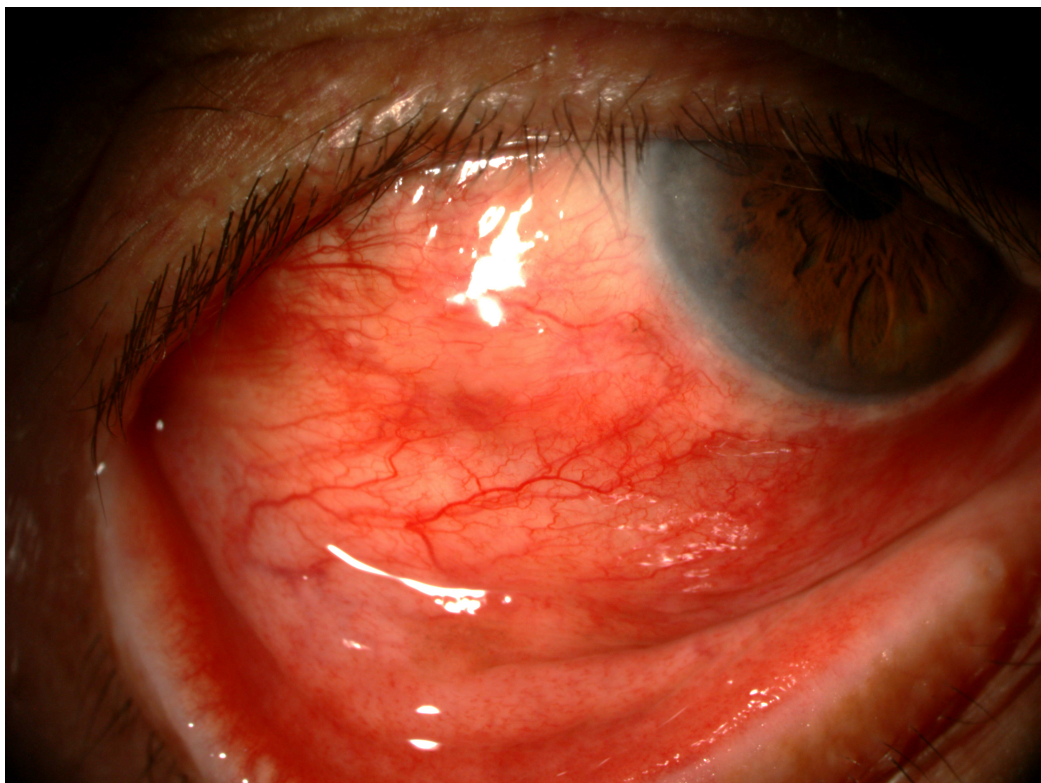


Figura 3.3: OSSN difusa, simuladora de conjuntivitis crónica.

subyacentes son sugestivas de malignidad (Fig. 3.4), sin embargo, no siempre la apariencia clínica nos permite diferenciar lesiones benignas de malignas (Kaliki et al., 2017). Contrariamente a lo que pueda parecer, el espesor de la lesión no es siempre un indicador de carcinoma invasivo (Mittal et al., 2013).

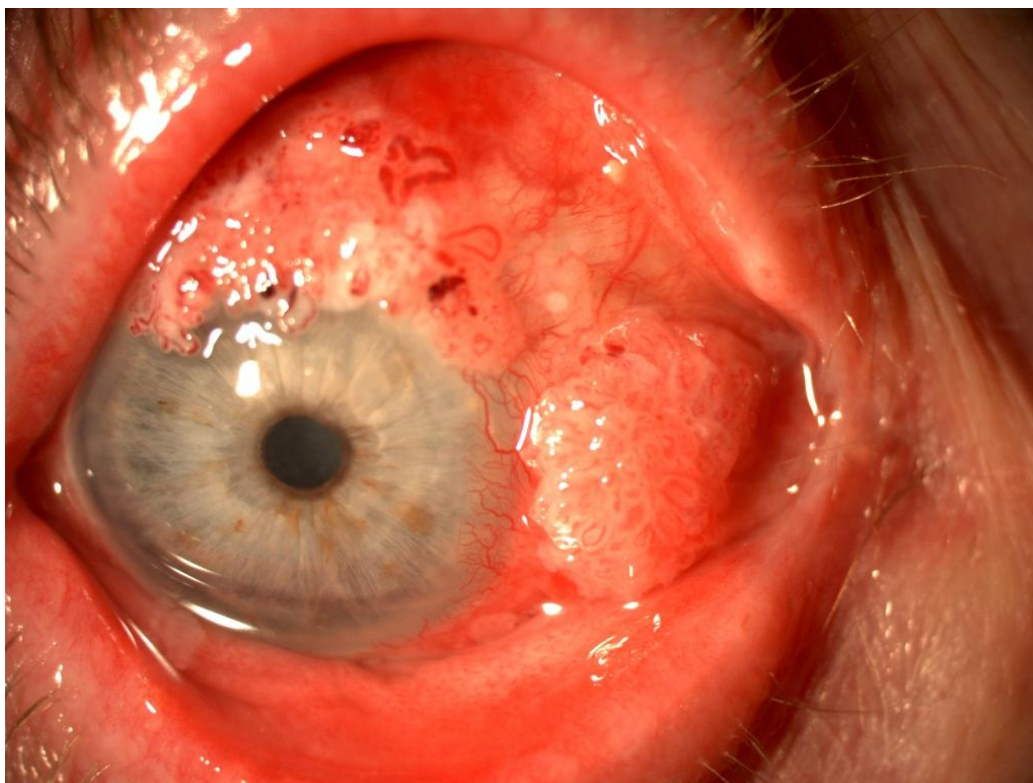


Figura 3.4: OSSN de gran tamaño adherida a tejido subyacente. Aspecto clínico sugestivo de malignidad.

El *grado de diferenciación histológica* de las OSSN (bien diferenciado--indiferenciado) se define en función de la valoración combinada de tres factores: densidad celular, número y aspecto de mitosis y pleomorfismo celular.

Las variantes más agresivas son poco frecuentes. El *carcinoma mucoepidermoide (MEC)* es un tumor que afecta típicamente a las glándulas salivares y al tracto respiratorio superior; sin embargo, en raras ocasiones, puede afectar también a la conjuntiva ocular (Joag et al., 2015). Moloney et al., (2014) revisaron una serie de 43 casos de MEC, poniendo en evidencia que son tumores que aparecen como una lesión a nivel limbar, alrededor de la séptima década de la vida y prefe-

blemente en varones. La mucina producida por las células le da una apariencia amarillenta quística. Tienen tendencia a invasión intraocular e intraorbitaria y a la recurrencia tras el tratamiento, siendo necesaria la exenteración/enucleación hasta en un 65 % de los casos para el control local del tumor. No se han publicado metástasis a distancia. El *carcinoma de células fusiformes (FCC)* es otra variante rara pero muy agresiva con alta tendencia a la penetración intraocular, simulando úlceras periféricas o pterigion. Por estas razones, la sospecha clínica en los estadios iniciales es clave en la reducción de la morbilidad de estas entidades (Ali et al., 2016; Zoroquiain et al., 2016).

3.4 Bases biomoleculares y marcadores inmunohistoquímicos

La carcinogénesis se basa en la acumulación de lesiones genéticas no letales a lo largo de muchos años que acaban por transformar una célula normal en una célula maligna. En este proceso *multistep* determinados grupos de genes son particularmente afectados, dando paso a la adquisición de seis a siete capacidades especiales para la progresión tumoral (Hahn y Weinberg 2002):

- Crecimiento y proliferación celular autónoma: capacidad de proliferación independiente de estímulos mitogénicos externos como resultado de la activación de oncogenes que estimulan el crecimiento celular.
- Insensibilidad a la inhibición del crecimiento: la proliferación celular es controlada por varios factores inhibidores extracelulares e intracelulares. Las células tumorales pueden no responder a estos estímulos inhibitorios continuando su proliferación.
- Defectos en la reparación del ADN: la reparación de errores en el ADN puede estar comprometida favoreciendo la inestabilidad genómica.
- Evasión apoptótica: resistencia a la muerte celular genéticamente programada por alteraciones en genes que controlan la apoptosis como el p53, familia

del bcl-2, permitiendo la supervivencia de células con errores graves en el ADN.

- Inmortalidad celular: persistencia de la actividad de los telómeros por reactivación de la telomerasa.
- Neoangiogénesis: las células tumorales adquieren la capacidad de producir factores de crecimiento que estimulan la formación de nuevos vasos sanguíneos que nutren el tumor permitiendo su progresión.
- Capacidad de invasión y metástasis: adquisición de capacidad de movilización, penetración y migración de las células tumorales a otras regiones del organismo.

Esta acumulación sucesiva de alteraciones genéticas, citogenéticas y epigenéticas está paralelamente y fenotípicamente relacionada con varias alteraciones histopatológicamente detectables como hiperplasias y displasias, y se traducen clínicamente en lesiones premalignas, CIS y carcinomas invasivos. El ciclo celular es un punto clave para la comprensión de la biopatología de los tumores epiteliales córneo-conjuntivales. Muchos de los errores moleculares que causan el comportamiento anormal de las células neoplásicas asientan en alteraciones del ciclo celular (Massagué 2004).

3.4.1. Ciclo celular

La mayoría de las células son sustituidas en los tejidos a través de un proceso de replicación del ADN y división del núcleo y el citoplasma originando dos células hijas. Esta rutina secuencial está constituida por dos partes básicas: la mitosis (división celular con división nuclear y citocinesis) y la interfase (período entre las mitosis en el que hay síntesis de ADN) (Lomanto et al., 2003). La síntesis de ADN ocurre en apenas una parte de la interfase. De esta manera podemos dividir el ciclo celular en cuatro fases: fase de presíntesis (fase G1) donde ocurre la producción de ácido ribonucleico (ARN) y proteínas necesarias para la etapa siguiente; fase de síntesis de ADN (fase S) donde existe la replicación gradual del ADN nuclear que da lugar a la duplicación del genoma; fase de postsíntesis

3.4. Bases biomoleculares y marcadores inmunohistoquímicos

(fase G2) con producción de proteínas necesarias para la fase siguiente; y la fase de mitosis (fase M). En la fase de mitosis ocurre la separación de las cromátidas duplicadas y tiene lugar tanto la división nuclear (mitosis) como la división del citoplasma (citocinesis). Corresponde a la fase más corta del ciclo celular. La mayoría de las células no se encuentran en la fase activa de producción de ADN o de mitosis, pudiendo estar en fase de reposo G0 o de presíntesis G1, la fase más larga del ciclo celular (Lomanto et al., 2003).

La progresión del ciclo celular está controlada por un conjunto de señales y mecanismos extracelulares e intracelulares que coordinan los distintos procesos que ocurren durante las fases del ciclo, dando lugar a su activación o inhibición. Esta red compleja de proteínas actúa mayoritariamente en determinados puntos clave del ciclo celular denominados puntos de control. Uno de los más importantes se encuentra en el paso de la fase G1 a la fase S denominado punto de restricción o punto de control G1/S, dependiente de la acción de los factores de crecimiento para el paso a la fase S. El punto de control G1 permite la detección de errores en el ADN antes de su replicación. Cuando es detectado un error en el ADN, el ciclo celular se interrumpe permitiendo la reparación de los genes afectados. El punto de control G2 evita el inicio de la mitosis sin una completa replicación del ADN. Otro punto de control se da en la fase de mitosis donde un conjunto de proteínas controla el alineamiento de cromosomas asegurando la correcta distribución de las cromátidas para las células hijas (Lomanto et al., 2003; Pinto et al., 2007; Logarinho y Bousbaa 2008).

3.4.2. Ki-67

La proliferación celular puede analizarse mediante técnicas de IHQ, cuantificando la expresión de antígenos en el tejido tumoral. La existencia de antígenos nucleares humanos asociados a la proliferación celular se sugirió al identificar autoanticuerpos en el suero de algunos pacientes con lupus eritematoso (Miyachi et al., 1978). Gerdes et al., (1983) de la Universidad de Kiel, buscando un marcador para linfoma de Hodgkin en la línea celular L428, obtuvieron un anticuerpo monoclonal que denominaron Ki-67 (por Kiel). Este anticuerpo reconoce un antígeno

nuclear humano que se halla en células proliferantes, pero está ausente en células en reposo (Gerdes et al., 1983).

El antígeno Ki-67 es una proteína no histónica con una doble banda de 345 kDa y 395 kDa (Gerdes et al., 1991). El gen que lo codifica está situado en el cromosoma 10 (Schonk et al., 1989). Se detecta en todas las fases del ciclo celular excepto en G0 y por tanto se expresa en G1, S, G2 y M (Gerdes et al., 1984). Algunos autores afirman que aparece al final de la fase G1 (Gerdes et al., 1984), acumulándose durante el ciclo celular, desde G1 a la mitosis, fase en la que alcanza su punto máximo e inmediatamente después de la mitosis la cantidad de Ki-67 disminuye llegando al nivel mínimo (Duchrow et al., 1994)). Otros autores postulan que los niveles de Ki-67 disminuyen a lo largo de G1 y desaparecen al final de esta fase (Lopez et al., 1991).

El Ki-67 se utiliza rutinariamente como marcador de proliferación celular en tumores, y puede detectarse el antígeno en tejidos incluidos en parafina mediante varios anticuerpos comercializados, como por ejemplo KiS-5 o KiS-11, pero el anticuerpo MIB-1 es el que se usa con mayor frecuencia. El índice Ki-67 se define como el porcentaje de células teñidas sobre el número total de células neoplásicas cuantificadas. La reproducibilidad intra e interlaboratorios en la interpretación del Ki-67 se analizó en un estudio cooperativo internacional. Se comprobó que, aunque existía concordancia en los análisis intralaboratorios, había una gran variabilidad interlaboratorios y que los métodos formales de conteo eran más fiables que los de estimación visual (Liu y Klein-Szanto 2000).

3.4.3. p21

El término p21 se emplea para denominar un gen humano localizado en el cromosoma 6 (ubicación 6p21.2), que codifica a una proteína inhibidora de la cinasa dependiente de ciclina, que inhibe directamente la actividad de las enzimas de los complejos ciclina-CDK2 y ciclina-CDK4. La proteína codificada por el gen p21 se denomina proteína inhibidora de la cinasa dependiente de ciclina 1A (ingl., CDKN1A). Se trata de una proteína nuclear que funciona regulando el avance de la fase S del ciclo celular, aunque también ha podido observarse a nivel citoplasmático. La p53 es una proteína involucrada en la regulación del ciclo

3.5. Diagnóstico

celular. Actúa a nivel del paso de G1 a S y cuando se activa induce apoptosis en respuesta a la alteración del ADN. La p53 media su efecto en parte a través de la p21.

La p21 tiene efecto p53 dependiente y p53 independiente, y este último inhibe a su vez a ciclina-cinasas dependientes, deteniendo el ciclo celular al inhibir la replicación de ADN. La proteína p21 puede considerarse como la ejecutora de p53, estando el gen de p21 bajo el control transcripcional de p53 (El Deiry et al., 1994). La expresión de p21 que está disminuida o ausente en células en reposo, se puede involucrar en el control de la actividad de cinasas dependientes de ciclinas en células proliferantes, además de su función de respuesta al daño del ADN deteniendo el ciclo celular y participando en su reparación o llevando a la célula a la muerte celular programada. La disminución en el inmunomarcaje de p21 podría ser un indicador de mal pronóstico en algunos tumores (Giannoudis y Herrington 2000).

3.5 Diagnóstico

Tradicionalmente los métodos diagnósticos para las diferentes patologías de la SO incluían historia clínica, exámenes clínicos, citología de impresión (CI) e histopatología. En los últimos años, la Microscopía Confocal (MC), Tomografía de Coherencia Óptica de alta resolución (UHR-OCT) de segmento anterior, y la Biomicroscopía Ultrasónica (BMU), han contribuido significativamente en el diagnóstico y manejo de estas patologías (Nanji et al., 2015). La conjuntiva y la córnea son tejidos fácilmente visibles, lo que permite que los tumores que aparecen a nivel de la SO puedan ser detectados en estadios precoces.

El *examen ocular externo y la lámpara de hendidura* son por tanto vitales para el diagnóstico de los tumores córneo-conjuntivales. Estos tumores tienen una presentación clínica característica, por lo que el diagnóstico puede llegar a realizarse mediante un examen clínico cuidadoso llevado a cabo por un oftalmólogo experimentado. Es importante examinar el globo ocular completo y los párpados ya que pueden verse afectados. Cuando se sospecha malignidad es también necesario palpar las áreas preauricular y submandibular para descartar nódulos linfoides que puedan producir metástasis locales. En la lámpara de hendidura puede ser difícil

determinar los límites del tumor cuando existen lesiones difusas, y para ello, tanto la fluoresceína como el rosa de bengala pueden ser de utilidad. La adhesión de la conjuntiva a la esclera es un signo de malignidad tumoral, por lo que debe ser evaluada igualmente.

Las OSSN presentan un espectro de *gradación histopatológica* que se clasifica de la siguiente manera (Lee y Hirst 1995):

- Displasia de células epiteliales
 1. leve: menos de un tercio de espesor epitelial ocupado por células atípicas.
 2. moderada: tres cuartos de espesor epitelial ocupado por células atípicas.
 3. severa: espesor epitelial completo ocupado por células atípicas.
- CIS: pérdida de la estructura normal de la superficie, persistiendo íntegra la membrana basal epitelial.
- Carcinoma invasivo de células escamosas: rotura de la membrana basal de la capa epitelial con invasión de la sustancia propia.

La apariencia histológica de las células atípicas también ha sido clasificada con varias nomenclaturas:

- Célula pequeña/célula basal/spindle cell: células pequeñas uniformes con núcleos elípticos moderadamente cromáticos sin prominentes nucleolos; citoplasma basófilo escaso y delgado; bordes celulares pobremente definidos; figuras mitóticas frecuentes.
- Células epidermoides/células escamosas/células grandes/células espinosas/-células pavimentosas: células grandes poliédricas con núcleos grandes hipercromáticos y frecuentemente pleomórficos con nucleolos prominentes; citoplasma eosinófilo abundante, grados variables de hiperqueratosis y paraqueratosis; figuras mitóticas infrecuentes.

3.5. Diagnóstico

- Células claras: pequeñas células con núcleos hipercromáticos; citoplasma escaso, claro, delgado y basófilo con gránulos ocasionales de pigmento melánico.
- Células mucoepidermoides/*goblet cell*: células ordenadas en nidos y cordones con capacidad de secretar mucina al espacio extracelular.

McGavie (1942) comparó cinco casos de carcinoma in situ de la conjuntiva con la enfermedad de Bowen de la piel. Ciertas características histológicas del carcinoma escamoso de la superficie ocular pueden recordar la enfermedad de Bowen que se caracteriza por células epidermoides atípicas agrandadas con núcleos raros y citoplasmas vacuolados. La OSSN es diferente a la displasia que implica la formación de queratina anómala profunda en la SO, y no es sugestiva de malignidad. Otra de las clasificaciones de las OSSN que podemos encontrar en la literatura es la propuesta por *American Joint Committee on Cancer (AJCC)* (Tab. 3.1), basada en las características del tumor, la afectación tumoral de los ganglios regionales y la presencia o no de metástasis tumoral a distancia (Pradeep et al., 2012).

La OSSN que surge solo de la córnea es rara, y su etiología es controvertida. Algunos autores abogan por un proceso displásico de novo en la córnea, mientras otros sugieren el descenso centripeto de las células neoplásicas del limbo. Desde el punto de vista histopatológico son lesiones similares a las limbo-conjuntivales. Macroscópicamente tienen un aspecto grisáceo, opaco, avascular con márgenes friables (Fig. 3.5). Sin embargo, a diferencia de las formas limbares o conjuntivales, es más frecuente la disminución de la agudeza visual por afectación del eje visual. Pueden ser confundidas con lesiones alérgicas o lesiones originadas por déficit de vitamina A (Lee y Hirst 1995). El diagnóstico definitivo de las OSSN se realiza mediante el estudio histopatológico de las lesiones tras biopsia incisional (lesiones extensas) o escisional (lesiones de pequeño tamaño).

Gelender y Forster (1980) mostraron que las *características citológicas* podían observarse usando un cepillo para obtener la muestra y fijarla en Papanicolaou (Mittal et al., 2013). La CI en papel de acetato celulosa, tiene un alto valor predictivo en los casos de displasia moderada a carcinomas microinvasivos (Nolan et al., 1994). El diagnóstico se basa en los criterios citológicos universales que

Tabla 3.1: Clasificación de las OSSN¹

AJCC Seventh Edition Classification of Conjunctival Carcinoma (OSSN) Descripción tumor, ganglios linfáticos, metástasis (TNM)	
Estadio clínico	Definiciones
Tumor primario (T)	
TX	Tumor no puede ser evaluado
T0	Tumor ausente
Tis	Carcinoma in situ/neoplasia intraepitelial conjuntival
T1	Diámetro de la base <5 mm
T2	Diámetro de la base <5 mm y no invade estructuras adyacentes*
T3	Tumor invade estructuras adyacentes (excluida la órbita)*
T4	Tumor invade órbita
T4a	Tumor invade tejidos blandos orbitarios, sin invasión ósea
T4b	Tumor invade hueso
T4c	Tumor invade senos paranasales
T4d	Tumor invade cerebro
Ganglios linfáticos regionales (N)	
NX	Ganglios linfáticos regionales no pueden ser evaluados
N0	Ganglios linfáticos regionales sin metástasis
N1	Ganglios linfáticos regionales con metástasis
Metástasis a distancia (M)	
M0	Ausencia metástasis a distancia
M1	Presencia metástasis a distancia

*estructuras adyacentes incluye: córnea, conjuntiva de fórnix, palpebral, tarsal, compartimento intraocular, carúncula, canalículo y punto lagrimal, plica, lamela anterior y posterior párpado, borde palpebral

¹ AJCC seventh edition

3.5. Diagnóstico

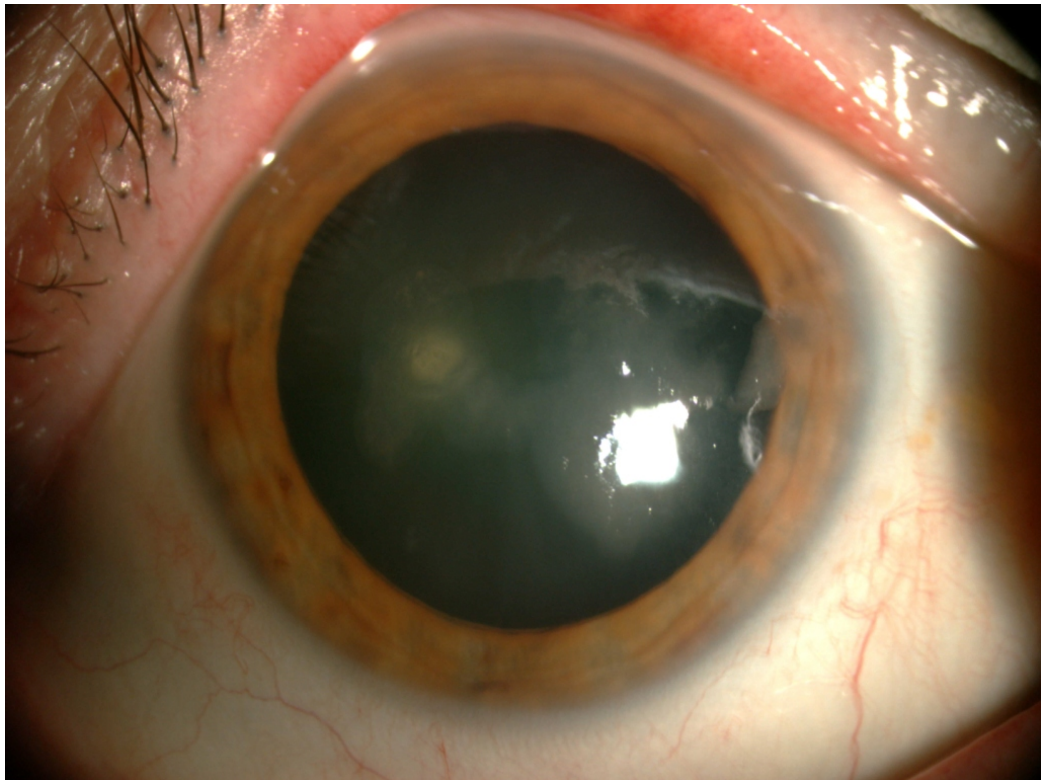


Figura 3.5: OSSN corneal : aspecto grisáceo y opaco. Afecta la visión por ocupación de parte del eje visual.

incluyen alargamiento nuclear, hiper cromasia, contorno nuclear irregular, nucleolo prominente, y cromatina nuclear gruesa. La CI es menos sensible a la hora de diagnosticar un carcinoma escamoso invasivo. Nolan et al., (1994) describieron que la presencia de queratina, células inflamatorias abundantes y pocas células diagnósticas, debería alertar al clínico de la presencia de enfermedad evolucionada. Por lo tanto en los casos de lesiones hiperqueratósicas con CI negativa, se debe realizar una biopsia diagnóstica por alta sospecha de OSSN. Tole et al., (2001) comunicaron que existe una correlación del 80 % (20/25) en los resultados de CI con membrana bio-pore y el diagnóstico histopatológico. Sin embargo, un límite a tener en cuenta de la CI es la no diferenciación entre CIS y carcinoma infiltrante. Es una técnica no invasiva, de utilidad a la hora del diagnóstico y del seguimiento tras tratamiento de estas lesiones (Kayat et al., 2017).

El uso de tinciones como el *azul de toluidina al 1 %* fue descrito por Romero et al., (2013) para el diagnóstico de OSSN y lesiones premalignas de la conjuntiva en Brasil, aunque se observó que la intensidad de la tinción no se correlacionaba con el grado de malignidad de estas neoplasias. En este estudio se determinó que la especificidad de la tinción era del 50 % y la sensibilidad del 100 % (n= 47 lesiones), resultados similares a los obtenidos posteriormente por Steffen et al., (2014), en Sudáfrica (especificidad: 50 %; sensibilidad: 97 %), pero en este caso la tinción se realizaba con azul de metileno 1 %. En un estudio reciente realizado en Kenia, se ha comprobado que la intensidad de tinción azul es similar si se utiliza toluidina al 0,05 % disminuyendo el discomfort que los pacientes acusaban tras la instilación de las gotas. En este estudio, el más grande hasta el momento (n= 419 lesiones), se ha obtenido una especificidad del 31 % y una sensibilidad del 92 % para la tinción con azul de toluidina al 0,05 %, concluyendo que podría utilizarse como un buen método de screening ya que además su interpretación es muy sencilla y concordante entre distintos observadores (Gichuhi et al., 2015a).

El uso del *MC* se ha descrito como alternativa para el diagnóstico de las OSSN, sin embargo precisa del contacto directo. Tiene la ventaja de mostrar detalladamente la morfología celular, pero generalmente es sobrepasada la capacidad por la Tomografía de Coherencia Óptica (OCT).

3.5. Diagnóstico

Tanto la *BMU* como la *UHR-OCT* proporcionan una visión morfológica más amplia de la lesión y muestran una buena correlación con las medidas tisulares. La *UHR-OCT* de segmento anterior tiene la posibilidad de proporcionar una “biopsia de tejido” de forma no invasiva y óptica, donde la morfología y algunas características histológicas pueden ser examinadas “in vivo”. Su reciente introducción permite evaluar la conjuntiva y la córnea mediante cortes axiales de alta resolución, sin embargo, en casos de leucoplaquia o lesiones gruesas puede verse con sombras. La *BMU* tiene mayor capacidad de penetración pero menor resolución. Para el diagnóstico de las OSSN con *UHR-OCT* hay que tener claras tres premisas clásicas (Tab. A.3).:

1. Capa epitelial hiperreflectiva engrosada.
2. Transición abrupta desde epitelio normal a epitelio alterado.
3. Plano diferente entre la lesión y el tejido subyacente.

Las técnicas de imagen (Fig. 3.6), suponen un importante avance en el diagnóstico no invasivo de las OSSN (Shousha et al., 2013), ya que su tratamiento se orienta hacia la utilización de terapias médicas. Kieval et al., (2012) describieron que estas técnicas de imagen podrían emplearse también para el diagnóstico diferencial (Tab. A.3), la monitorización del tratamiento y el control de la recidiva de estas lesiones (Thomas et al., 2014). En el anexo (Tab. A.4 y Tab. A.5) se pueden observar las ventajas y los inconvenientes de las distintas técnicas diagnósticas descritas anteriormente. Son tablas obtenidas de distintas fuentes que se complementan en este sentido (Thomas et al., 2014; Ong et al., 2016).



Figura 3.6: UHR-OCT empleada en el Bascom Palmer Eye Institute, Miami, FL, USA.

3.6 Diagnóstico diferencial

Los diferentes estadios de las OSSN son difíciles de distinguir clínicamente, con una precisión diagnóstica por oftalmólogos experimentados del 40 %; siendo el carcinoma de células escamosas el más difícil de identificar (30 % de precisión). Los diagnósticos diferenciales clínicos más comunes son pterigion, papiloma, pingüecula, disqueratosis y nevus. Otros diagnósticos diferenciales incluyen el melanoma maligno, especialmente en los casos de melanosis racial, granuloma piógeno, quiste dermoide, celulitis orbitaria, ptisis bulbi, procesos linfoproliferativos, queratitis viral, queratoacantoma, hiperplasia pseudoepiteliomatosa, pannus corneal de cualquier origen, cicatriz de filtración en la córnea, úlcera de Mooren, degeneración lipídica corneal y distrofia epitelial de la córnea.

A continuación se exponen los factores distintivos según Pizzarello y Jakobiec (1978):

- El melanoma maligno tiene una superficie lisa regular, carece del aspecto gelatinoso o leucoplásico y puede estar ulcerado.
- El papiloma puede ocurrir en cualquier lugar de la conjuntiva, puede ser sésil o pediculado, tiene un patrón vascular puntiforme y ocurre en pacientes jóvenes, sin embargo, la diferenciación última la da el examen histológico.
- El nevus benigno tiende a ocurrir en la zona interpalpebral, desde el limbo a la carúncula, en pacientes jóvenes y tiene quistes distintivos en el examen con lámpara de hendidura. Lesiones pobremente pigmentadas cerca del limbo pueden simular un proceso displásico.
- La hiperplasia pseudo-epiteliomatosa es una lesión benigna reactiva o pseudocancerosa de la conjuntiva que tiende a desarrollarse rápidamente en semanas o meses. Ocurre en cualquier lugar de la conjuntiva, tiene una coloración blanquecina y raramente presenta unos centros crateriformes llenos de queratina, recordando un queratoacantoma.

Histopatológicamente, otras lesiones pueden tener características similares, como la hiperplasia pseudoepiteliomatosa, las lesiones melanocíticas pobremente

pigmentadas que crecen de manera pagetoide y el carcinoma pagetoide de células sebáceas que se extiende radialmente desde el párpado, además de las lesiones carunculares. El granuloma piógeno ha sido también descrito como simulador de un carcinoma de escamoso.

3.7 Pronóstico

La supervivencia global de las OSSN es excelente, siendo las recidivas el problema principal de estos tumores (Tab. 3.2).

Tabla 3.2: Resumen de los distintos Riesgos de Recurrencia publicados de las OSSN tras Escisión y Crioterapia

Recurrencias de las OSSN tras escisión y crioterapia				
Series	N	Media de Seguimiento (meses)	Excisión y Crioterapia Tratamiento Inicial (%)	Recurrencias OSSN (%)
Li et al., (2015)	43	29 (mediana)	100	7,1
Nanji et al., (2014)	49	24 (mediana)	100	6,1
Palamar et al., (2014)	21	31	100	0
Crim et al., (2013)	4	78	100	0
Sturges et al., (2008)	14	35	100	0
Peksayar et al., (2003)	57	31	86	12,3
Sudesh et al., (2000)	19	37	68	10,5
Tunc et al., (1999)	60	56	66	5

Los datos demográficos, el tamaño del tumor, y el diagnóstico histopatológico son datos importantes a la hora de establecer el tratamiento y el tiempo de seguimiento de los pacientes con OSSN. Las recurrencias de estos tumores no se han correlacionado con el sexo, la lateralidad ni la apariencia clínica de la lesión en el momento de la presentación. Los factores predictores de recurrencia que se han evidenciado en distintos estudios han sido la edad, el tamaño del tumor (>5 mm), la extensión corneal (>2 mm), la invasión local, las características histopatológicas y la primera técnica quirúrgica realizada.

La invasión completa del estroma corneal y la afectación de estructuras de la cámara anterior sugieren invasión intraocular, que ocurre entre el 2 % y el 8 % de los casos según las distintas series. Las metástasis a distancia son raras. Los ganglios preauriculares y submandibulares son los que primero se afectan, pero

3.7. Pronóstico

también pueden metastatizar a las glándulas parótida, submandibular y submaxilar, los pulmones y el hueso. Pizzarello y Jakobiec (1978) determinaron que las OSSN de mayor grado mostraban mayor índice de recurrencia tras tratamiento: CIS (17 %-24 %) y carcinoma invasivo (30 %-41 %). Yousef y Finger (2012) encontraron un índice de recurrencia de 12,8 %, para CIS y de 22,2 % para carcinoma invasivo, siendo estos índices inferiores a los descritos en estudios previos. Pizzarello y Jakobiec (1978) también hallaron que si quedaban márgenes quirúrgicos afectados con tejido displásico, el riesgo de recurrencia era del 69 %, mientras que si se realizaba crioterapia coadyuvante tras la escisión quirúrgica, el riesgo de recurrencia disminuía considerablemente (7 %-22 %).

En general, es difícil definir el grado de afectación escleral (factor de riesgo de recurrencia e invasión intraocular), por lo que se recomienda tratar de forma rutinaria la base de la esclera y los márgenes de la conjuntiva con una doble barrera de crioterapia. El MEC tiene una incidencia muy baja a nivel de la conjuntiva ocular, a diferencia de lo que ocurre a nivel de las glándulas salivares. Cervantes et al., (2002) publicaron una serie de casos de 287 OSSN, de los cuales tan solo uno fue MEC de conjuntiva. En la literatura inglesa se han publicado 21 casos de MEC hasta el 2006 (Robinson et al., 2006). Alves publicó una serie de 71 casos de OSSN, entre los cuales sólo un caso era MEC. Se trata de una neoplasia localmente agresiva con un índice de recurrencia muy elevado, entre un 84,6 % y un 100 %, sin embargo las metástasis locales y a distancia son raras (Hwang et al., 2000). El FCC es una variante rara de OSSN, pero muy agresiva a nivel local (Shields et al., 1999). Cervantes et al., (2002) publicaron una serie de casos de OSSN, entre las cuales tan solo dos casos fueron FCC. La supervivencia global de las OSSN es del 90 % a los 5 años (Chebbi et al., 2015). Son tumores que se caracterizan por tasas de metástasis locorregional y a distancia muy bajas, siendo su principal problema, como ya se ha descrito anteriormente, la recidiva local, que se ha estimado entorno al 32 %. De ahí que sea fundamental el estudio de los métodos diagnósticos y tratamientos para el conocimiento y control de los factores pronósticos de las OSSN (Li et al., 2015).

3.8 Tratamiento

El objetivo fundamental del tratamiento de las OSSN es eliminar completamente la lesión y prevenir recurrencias sin causar complicaciones o efectos secundarios a nivel de la SO. La remisión espontánea que consiste en la curación total o parcial de una patología sin que el paciente haya recibido tratamiento, se ha documentado en la bibliografía para distintos tumores, siendo la frecuencia media para el global de los tumores de 1/100.000 casos. Podría deberse a ciertos mecanismos de regeneración y defensa que actúan de forma diferente. En el caso de las OSSN también es posible, aunque no sean publicadas habitualmente.

Existen distintos protocolos de tratamiento para intentar lograr este objetivo, pero ninguno reconocido universalmente. El tratamiento tradicional se ha basado en la resección simple de la lesión mediante la técnica quirúrgica depurada “no-touch” propugnada por Shields et al., (1997b). Consiste en realizar la resección de la neoplasia incidiendo por tejido sano, unos 3–4 milímetros por fuera de los bordes objetivables de la lesión. No se debe tocar la misma ni realizar lavados con ninguna solución salina para evitar la diseminación de células neoplásicas, las cuales pueden anidar y provocar una recurrencia. Se deben cauterizar cuidadosamente los vasos esclerales y conjuntivales sangrantes y retirar una fina capa de esclera en la zona de la base de la lesión. Se aplica alcohol absoluto con una esponja para inducir necrosis y eliminar las células de todo el lecho de resección. Posteriormente se practica una crioterapia en doble paso de todos los márgenes conjuntivales de la resección realizada. Cuando se realizan resecciones amplias es necesario el empleo de tejidos para reconstruir el lecho quirúrgico. Se han empleado colgajos conjuntivales pediculados rotacionales, colgajos conjuntivales libres del mismo ojo o del ojo adelfo y en casos de resecciones de gran extensión, membrana amniótica. Hasta el año 2014, la reconstrucción de la SO con membrana amniótica era una opción de tratamiento en los casos de OSSN muy extensas, (Espana et al., 2002; Lee et al., 2014), pero Palamar et al., (2014) demostraron con una larga serie de casos que el empleo de membrana amniótica era una opción terapéutica muy efectiva y con menos complicaciones, lo que permitiría realizar grandes resecciones quirúrgicas con márgenes amplios que reducirían el riesgo de recidiva,

3.8. Tratamiento

manteniendo un buen resultado cosmético y funcional a nivel de la SO, (Hanada et al., 2017).

Sin embargo, más allá del borde de la lesión determinado clínicamente es probable que exista enfermedad microscópica, por lo que se han publicado recurrencias de hasta un 56 % en series tratadas únicamente mediante escisión simple (Tabin et al., 1997). Estudios posteriores confirmaron que la técnica “*no-touch*” podría ser efectiva obteniendo índices de recurrencia entorno al 12 % (7 %–22 %) cuando se realizaba escisión y crioterapia (Lee y Hirst 1995; Sudesh et al., 2000; Yousef y Finger 2012).

Aunque las OSSN difusas son menos frecuentes que las localizadas, representan un importante subgrupo a tener en cuenta a la hora de su tratamiento. La escisión quirúrgica de una lesión con gran afectación limbar y con invasión corneal, requiere una reconstrucción posterior de la SO, que se asocia en la mayoría de los casos a neovascularizaciones intaestromales, procesos inflamatorios persistentes y errores refractivos importantes (Copeland y Char 1990). En estos casos, el uso de agentes quimioterápicos tópicos supuso una alternativa como tratamiento de elección (Frucht-Pery et al., 1997; Wilson et al., 1997; Shields et al., 2002). Rudkin et al., (2015), que utilizaron en su estudio 5-fluorouracilo (5-FU) al 1 % y MMC al 0,04 %, ponen de manifiesto un mayor riesgo de fracaso de estos tratamientos en comparación con su uso en OSSN localizadas. En estos casos estaría justificado realizar cambios de tratamientos farmacológicos tópicos e incluso en casos recalcitrantes utilizar IFN α 2b.

En 2003 se elaboró una encuesta para intentar estandarizar el tratamiento de las OSSN. La encuesta se envió a todos los miembros del Grupo de Inmunología y Microbiología Ocular (OMIG) y de la Sociedad de Córnea; reveló la emergente utilización de agentes tópicos en monoterapia o como adyuvantes tras la cirugía (Stone et al., 2005). Desde entonces, diferentes estudios han puesto de manifiesto la eficacia de la quimioterapia tópica. Encuestas recientes a cirujanos de segmento anterior revelan una mayor tendencia hacia la utilización de quimioterapia tópica, en forma de monoterapia, para el tratamiento de las OSSN.

En el año 2012 se llevó a cabo una revisión en la que el 79 % de los oftalmólogos consideraban que existía suficiente evidencia para el empleo de monoterapia tópica, sin embargo, sólo un 58 % de ellos la empleaban de forma habitual para

el tratamiento de las OSSN, probablemente por cuestiones económicas, experiencia profesional o preferencia del paciente (Adler et al., 2013). La monoterapia tópica tiene la ventaja de tratar la enfermedad subclínica en toda la SO y evitar las complicaciones locales derivadas de la cirugía, sobre todo en neoplasias de gran tamaño; sin embargo, a diferencia del enfoque quirúrgico, la respuesta clínica de la neoplasia no es inmediata, requiriendo en ocasiones varios meses para su resolución (Sepulveda et al., 2010; Nanji et al., 2013) y a diferencia de la exéresis con crioterapia, en algunos casos el diagnóstico histopatológico de la lesión no se realiza.

Los tres compuestos que han demostrado ser efectivos en el tratamiento de las OSSN son: 5-Fluorouracilo (de Keizer et al., 1986; Yeatts et al., 1995), Mitomicina-C (Wilson et al., 1997; Frucht-Pery et al., 1997; Kemp et al., 2002) e Interferón (Maskin 1994; Hu et al., 1998; Vann y Karp 1999). El 5-FU y la MMC son agentes quimioterápicos y el IFN α 2b es un agente inmunomodulador. Los dos primeros han mostrado toxicidad a nivel de la SO, llegando incluso a causar daño a nivel de las células madre del limbo (Dudney y Malecha 2004; Poothullil y Colby 2006; Russell et al., 2010); el uso de terapias inmunomoduladoras en el tratamiento de tumores está cada vez más extendido.

El 5-FU es un análogo de la pirimidina que bloquea la síntesis de ADN, inhibiendo las células en la fase S del ciclo celular interfiriendo en la síntesis del ARN. Es muy estable en solución acuosa, a diferencia de la MMC y no requiere refrigerio. Se usó por primera vez en el tratamiento de las OSSN en 1986 (de Keizer et al., 1986). La concentración a la que se utiliza es al 1 % y la pauta habitual es 1 gota 4 veces al día durante 1 mes y seguimiento durante 3 meses sin aplicar colirio. En la literatura se describe la necesidad de 1–5 ciclos para la resolución completa de la lesión (Parrozzani et al., 2016). Suele tolerarse bien, habiéndose descrito como efectos secundarios a corto plazo, conjuntivitis y queratitis superficial, pero no tan severas como las producidas por la MMC, y no se han evidenciado efectos adversos a largo plazo que afecten a la densidad o el pleomorfismo endotelial (Midená et al., 2000; Parrozzani et al., 2011; Joag et al., 2016; Gichuhi et al., 2016).

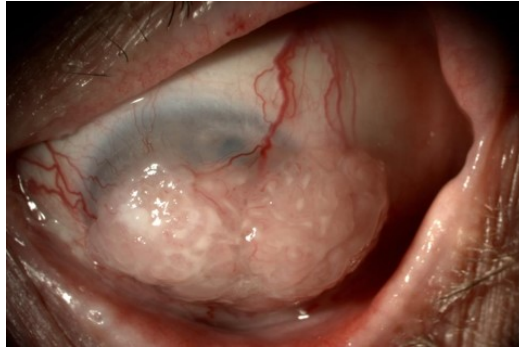
La MMC es un antimetabolito obtenido del *Streptomyces caespitosus*. Se utilizó por primera vez para el tratamiento de las OSSN en 1994 (Frucht-Pery y Rozen-

3.8. Tratamiento

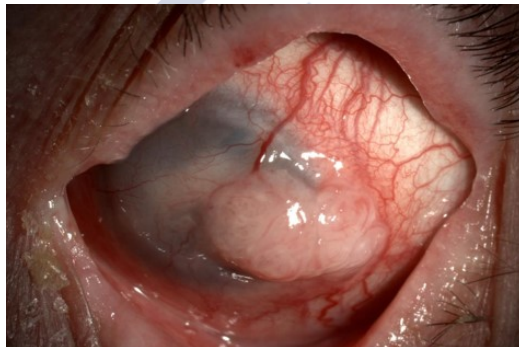
man 1994) y desde entonces un gran número de publicaciones han demostrado la eficacia de la MMC con tasas de resolución entre el 80 % y el 100 % (Frucht-Pery et al., 1997; Wilson et al., 1997; Rozenman y Frucht-Pery 2000; Daniell et al., 2002; Shields et al., 2002; Ballalai et al., 2009; Gupta y Muecke 2010). Las dosis de MMC utilizadas de forma habitual son de 0,02 % y 0,04 % utilizada en ciclos como se describió anteriormente. El tiempo medio de resolución de la lesión es de 4-5 semanas, mucho menor que si utilizamos el IFN α 2b, (Fig. 3.7). Sin embargo, el mayor problema del empleo de la MMC es la tolerancia por parte del paciente. A corto plazo se han descrito hiperemia conjuntival, conjuntivitis alérgica, queratitis superficial, dolor ocular y epífora (Shields et al., 2002; Gupta y Muecke 2010). A largo plazo se han publicado casos de erosiones corneales recidivantes, insuficiencias límbicas secundarias y estenosis del punto lagrimal (Khong y Muecke 2006; Ballalai et al., 2009).

El IFN α 2b es una glicoproteína producida por los leucocitos, con actividad antiviral y antineoplásica. La FDA (Food and Drug Administration), ha aprobado la utilización del IFN α 2b como tratamiento para un gran número de enfermedades entre las que destacan hepatitis-C, sarcoma de Kaposi, leucemias (Billiau 1981; Davis 1994), y se ha utilizado también en el tratamiento de melanomas, condilomas acuminados, carcinomas renales, cutáneos y cervicales (Ruszczak y Schwartz 1997; Kefford 2003).

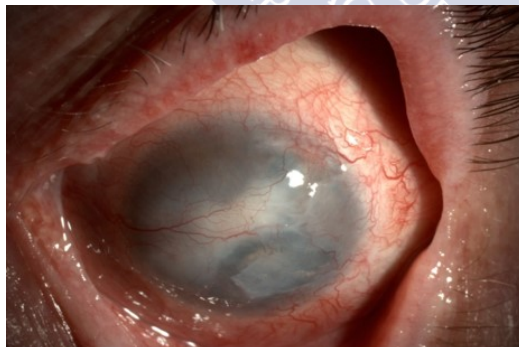
Los efectos antitumorales del IFN α 2b incluyen: prolongación de la duración del ciclo celular en las células malignas, inhibición de enzimas biosintéticas, inducción de la apoptosis, efectos antiangiogénicos (Decatris et al., 2002). A nivel ocular se emplea para el tratamiento de las OSSN en forma de colirio o mediante inyección conjuntival/intralesional. A diferencia de lo que ocurre con los colirios de MMC o de 5-FU, el colirio de IFN α 2b es bien tolerado y produce mínimos efectos secundarios a nivel de la SO (Karp et al., 2001; Boehm y Huang 2004; Schechter et al., 2008; Shah et al., 2012), por lo que puede ser utilizado de forma continua (1 gota 4 veces al día) hasta la desaparición del tumor, salvo en pacientes inmunocomprometidos en los que se han descrito daños importantes a nivel de la SO, (Torres Suárez et al., 2016). No así en el caso de la MMC, ya que debido a su alta toxicidad epitelial, se recomienda su uso en ciclos semanales



(a) OSSN de gran tamaño que invade córnea y conjuntiva.



(b) Reducción del tamaño de la OSSN tras 2 semanas a tratamiento con colirio de MMC 0,04 %.



(c) Aspecto a la semana de la cirugía, tratamiento con colirio de MMC 0,02 %

Figura 3.7: Tratamiento prequirúrgico de OSSN con MMC 0,04 % para reducir el tamaño de la lesión y postquirúrgico con MMC 0,02 %.

3.8. Tratamiento

(una semana con tratamiento y una semana sin tratamiento). Las desventajas que presenta el IFN α 2b son que el tiempo necesario para la resolución completa del tumor puede ser prolongado (media:12–14 semanas), que precisa frío para su conservación y que el precio es más elevado que el de los agentes quimioterápicos comentados previamente. Por todo esto, el cumplimiento por parte del paciente puede verse comprometido. En este sentido, la inyección conjuntival/intralesional de IFN α 2b presenta grandes ventajas (Fig. 3.8), no solo asegura el cumplimiento, si no que la medicación penetra mejor en el tumor. Otra de las ventajas es que la inyección de IFN α 2b está comercializada y no requiere ninguna preparación. Los inconvenientes que presenta la administración subconjuntival/intralesional, es que puede producir efectos sistémicos (fiebre, malestar, resfriado), que suelen ser bien tolerados y que debe aplicarse semanalmente.

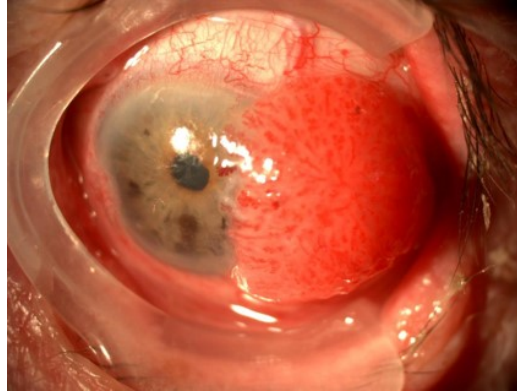
Numerosos estudios han demostrado que el IFN α 2b por sí solo, es un agente efectivo tanto para el tratamiento de las OSSN primarias como para las recidivas (Jones et al., 1991; Schechter et al., 2008; Shah et al., 2012; Nanji et al., 2013, 2014; Zarei-Ghanavati et al., 2014; Kusumesh et al., 2015; Kaliki et al., 2016). Galor et al., (2010) determinaron que a la hora de las recidivas locales, no había diferencias estadísticamente significativas entre las distintas dosis de IFN α 2b empleadas (1 millón IU/ml colirio ; 3 millones IU/ml inyección intralesional). Nanji et al., (2014) llevaron a cabo el primer estudio de casos y controles donde estudiaron el riesgo de recurrencia de estas lesiones, tras tratarlas con IFN α 2b o cirugía con crioterapia. Obtuvieron índices de recurrencia al año similares en ambos grupos (3 % y 5 % respectivamente).

Otros tratamientos utilizados para las OSSN han sido los *agentes anti-VEGF*, pero el número de estudios realizados es muy limitado (Zaki et al., 2009; Teng et al., 2009; Finger y Chin 2012). Faramarzi y Feizi (2013) concluyeron que inyecciones de agentes anti-VEGF perilesionales son efectivas en la reducción del tamaño de lesiones conjuntivales, pudiendo ser curativas en las lesiones limitadas a la conjuntiva. Sin embargo, este tratamiento apenas muestra efecto en las neoplasias con afectación corneal. La *radioterapia*, a pesar de no ser un tratamiento de elección en estas neoplasias, podría tener su papel en algunos casos muy agresivos (Lecuona et al., 2015). Damani et al., (2015) expusieron las propiedades antineoplásicas del *Aloe Vera*, demostradas in vitro e in vivo: antiproliferativa, in-

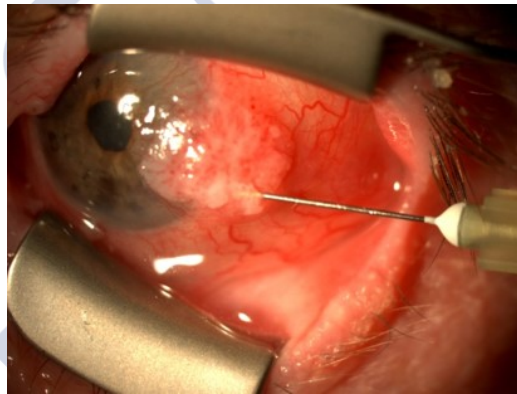
munoestimuladora y antioxidante. El uso de gotas de Aloe Vera como tratamiento primario o coadyuvante en el control de las OSSN.



3.8. Tratamiento



(a) OSSN de aspecto gelatinoso.



(b) Inyección intralesional de IFN.



(c) Desaparición de la OSSN.

Figura 3.8: Tratamiento de OSSN con IFN α 2b intralesional semanal hasta la resolución completa de la lesión.



PARTE II

HIPÓTESIS DE TRABAJO Y METODOLOGÍA



4

Justificación de estudio

Las OSSN son los tumores más frecuentes de la SO. Es importante su reconocimiento en estadios iniciales, ya que cuentan con tratamientos conservadores y elevada tasa de supervivencia. Esta enfermedad rara vez metastatiza, pero puede causar una severa destrucción tisular. Un retraso en su diagnóstico puede derivar en lesiones de gran tamaño, de difícil tratamiento y con elevado índice de recurrencia. Su prevalencia está aumentando y se considera que son los tumores no pigmentados más frecuentes de la SO. Existen métodos no invasivos para su diagnóstico, entre ellos, la CI, la MC, la BMU y la UHR-OCT, sin embargo, el diagnóstico de certeza solo lo obtenemos mediante su biopsia.

En este sentido, en la gran mayoría de los casos el diagnóstico histopatológico va a ser el punto de partida en la toma de decisiones en la clínica diaria. Los avances en la patología molecular aumentan la complejidad en el diagnóstico patológico con nuevos subtipos moleculares con implicaciones terapéuticas. La recidiva tumoral local o regional enturbia el buen hacer del tratamiento “exitoso” previo, comprometiendo directamente la integridad de la SO, con lo que esto conlleva, y por tanto, la calidad de vida de estos pacientes.

En base a todo esto, surge el interés por realizar este estudio para la caracterización morfológica y biopatológica de estas neoplasias, en busca de posibles correlaciones entre factores clínicos, histopatológicos e inmunohistoquímicos, que puedan, en cierta medida, predecir el comportamiento y la evolución de estos tumores. El escaso número de publicaciones al respecto en nuestro medio, ha sido

otro de los motivos que nos ha impulsado a considerar este tema de interés desde distintas perspectivas y enfoques.



5

Hipótesis y Objetivos

En el ámbito de la oncología en general, y en la que a nivel oftalmológico nos compete, se hace ineludible la investigación conjunta entre clínicos y anatómopatólogos para poder combinar variables clínicas, histopatológicas e inmunohistoquímicas en el análisis de supervivencia y en la valoración de la eficacia de tratamientos empleados.

5.1 Hipótesis de partida del estudio

La presente tesis doctoral se desarrolla bajo la premisa de tres hipótesis de partida en relación con las OSSN:

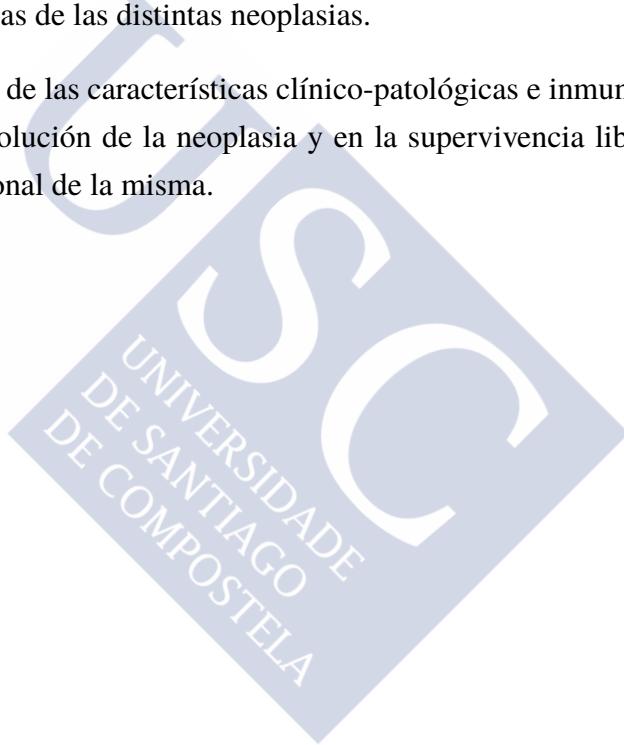
1. Existe una relación entre las características clínicas y las histopatológicas.
2. Los marcadores inmunohistoquímicos son predictores de la evolución.
3. Las recidivas locales dependen del tipo de neoplasia.

Este trabajo pretende confirmar o rechazar estas hipótesis, y para ello se definen una serie de objetivos.

5.2 Objetivos del estudio

Los objetivos específicos definidos en este estudio son:

1. Analizar las características clínico-patológicas de las OSSN.
2. Caracterizar la expresión de marcadores inmunohistoquímicos indicativos de proliferación celular (Ki-67, p21) en las muestras estudiadas.
3. Determinar la relación entre hallazgos inmunohistoquímicos y características clínico-patológicas de las distintas neoplasias.
4. Evaluar la influencia de las características clínico-patológicas e inmunohistoquímicas, en la evolución de la neoplasia y en la supervivencia libre de recidiva local o regional de la misma.



6

Material y Método

6.1 Población de estudio

Se realizó un estudio retrospectivo de las OSSN recogidas en el servicio de oftalmología del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela (CHUS) entre enero de 1995 y mayo de 2014. Los casos fueron identificados a través de una búsqueda informática, con el sistema “Patwin”, en la base de datos del servicio de Anatomía Patológica del mismo hospital, desde enero de 1995 (año en el que se inicia la informatización de los datos histopatológicos) hasta marzo de 2013; y con el sistema “EOS” desde abril de 2013 hasta mayo de 2014.

La fecha establecida arbitrariamente como punto final del seguimiento clínico de los pacientes con OSSN incorporados en el estudio es el mes de mayo de 2015, de forma que el seguimiento mínimo de las mismas fuera de al menos 1 año.

En resumen, fueron incluidos todos los pacientes con diagnóstico histopatológico de OSSN y con seguimiento clínico en el servicio de oftalmología no inferior a 1 año.

6.2 Estudio de datos clínicos

Mediante la revisión de las historias clínicas (archivadas o digitalizadas) de cada paciente, se obtuvieron los datos referentes a edad, sexo, raza, antecedentes personales y familiares, motivo de consulta (signo o síntoma por el que el paciente acude al oftalmólogo), tiempo transcurrido hasta el diagnóstico, mejor agudeza

visual corregida, presión intraocular, biomicroscopía anterior, fondo de ojo, tratamientos empleados (farmacológico exclusivamente, quirúrgico exclusivamente o quirúrgico con fármacos coadyuvantes) y recidivas locales o a distancia.

Realizando una encuesta telefónica, se completó la información referente al hábito tabáquico, lugar de trabajo habitual y presencia de manchas cutáneas que en algunos casos no venían recogidos en las fuentes consultadas.

En lo que respecta a la caracterización clínica de estas neoplasias, se recogieron los datos referentes a la localización, al tamaño y al aspecto clínico de las mismas; al igual que las fotos que se realizaron de cada lesión al diagnóstico y en las consultas sucesivas. La localización de las lesiones se agrupó en dos grandes grupos: región límbica nasal–temporal interpalpebral y otras localizaciones; el tamaño se midió en husos horarios. El aspecto clínico de las lesiones se clasificó en:

- papilomatoso: neoplasia con múltiples vasos anómalos con tejido carnosos rodeando dichos vasos.
- gelatinoso: neoplasia con apariencia gelatinosa y lisa.
- leucoplásico: neoplasia cubierta con una placa blanquecina y queratinizada.

6.3 Estudio de datos histopatológicos

Las muestras histológicas (fijadas en formol e incluidas en bloques de parafina) fueron obtenidas en el servicio de anatomía patológica del CHUS. A través del estudio de las muestras con técnicas convencionales de hematoxilina-eosina (HE), en cortes de 5 micras, se realizó la clasificación histopatológica de las mismas. Las características macroscópicas se recogieron directamente del informe histopatológico. La clasificación histopatológica de las OSSN abarcó diagnósticos de displasia (leve, moderada, severa), CIS y carcinoma invasivo. El grado de diferenciación tumoral se definió como bien diferenciado y poco diferenciado/indiferenciado.

6.4 Inmunohistoquímica

En el laboratorio del servicio de anatomía patológica del CHUS se realizó la preparación para el estudio IHQ de las muestras obtenidas. Se efectuaron secciones de 4 micras que se montaron en portas pretratados FLEX IHC (Dako-Agilent, Glostrup, Denmark) y se secaron en una estufa a 60 °C durante 4 horas. Las secciones se desparafinaron, hidrataron e incubaron en solución de recuperación antigénica EnVision FLEX (pH bajo para Ki-67 y alto para P21) en un PT-Link (Dako-Agilent) durante 20 minutos a 95 °C. Posteriormente se atemperaron en el PT-Link a 65 °C y se pasaron a tampón de lavado (Dako-Agilent) durante 5 minutos a temperatura ambiente.

La técnica IHQ se realizó de forma automática en un inmunoteñidor AutostainerLink 48 (Dako-Agilent). El protocolo de inmunotinción incluyó las siguientes etapas de incubación:

1. Reactivo de bloqueo de peroxidasa (Dako-Agilent) durante 5 minutos.
2. Anticuerpos monoclonales de ratón anti-Ki-67 (clon MIB1, Dako-Agilent), prediluido e incubado durante 30 minutos, y anti-P21WAF1/Cip1 (clon SX118, Dako-Agilent) al 1/25 e incubado durante 20 minutos.
3. Envision FLEX + Mouse Linker (Dako-Agilent) para amplificar la señal durante 15 minutos (solo para Ki-67).
4. Polímero de dextrano conjugado con peroxidasa de rábano e inmunoglobulinas de cabra anti-ratón y anti-conejo durante 20 minutos.
5. Solución de trabajo de tetrahidrocloruro de 3,3'-diaminobenzidina con peróxido de hidrógeno (Dako-Agilent) durante 10 minutos.
6. Contratinción con hematoxilina EnVision FLEX (Dako-Agilent) durante 15 minutos.

Entre las distintas etapas se realizaron lavados con tampón (Dako-Agilent) y tras la última, las secciones se lavaron de nuevo en tampón durante 5 minutos, para posteriormente proceder a su deshidratación, aclaramiento y montaje. Los

controles negativos de la técnica se llevaron a cabo sustituyendo los anticuerpos primarios por tampón de dilución (Dako-Agilent). En todos los controles negativos no se obtuvo inmunotinción. Los cortes se observaron y fotografiaron en un microscopio Olympus BX51 (Olympus, Tokyo, Japón) equipado con una cámara digital DP70 (Olympus).

El cálculo de la proporción de núcleos positivos en las preparaciones inmunohistoquímicas de Ki-67 y p21 se realizó mediante un analizador de imagen ChromaVision Systems - ACIS III (Dako-Agilent). Antes de realizar las cuantificaciones se revisó el umbral de positividad seleccionando la opción “plantilla” y, en caso necesario, se ajustó dicho umbral a las características de tinción de la muestra. La cuantificación se llevó a cabo seleccionando “a mano alzada” un mínimo de 5 campos de cada preparación elegidos al azar.

6.5 Estudio de supervivencia libre de recidiva

El *tiempo de seguimiento* se definió desde la fecha del diagnóstico hasta la última consulta o fallecimiento del paciente. La *supervivencia libre de recidiva local* fue considerada desde la fecha de tratamiento inicial hasta la fecha del primer diagnóstico de recidiva local o la última revisión del paciente en aquellos casos en los que no se observó recidiva clínica.

La *recidiva* la definimos como la aparición de una tumoración identificable clínicamente, en un ojo donde no era identificable tras su resección. Esta definición incluye tanto a pacientes con rebrote de su enfermedad extirpada incompletamente como a pacientes con formación de nuevos tumores.

6.6 Consideraciones éticas

La realización de este trabajo fue aprobada por el Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia (CEIC Galicia, España) tomando en consideración las siguientes cuestiones:

- Atendiendo a la pertinencia del estudio, teniendo en cuenta el conocimiento disponible, así como los requisitos legales aplicables, y en particular la Ley

14/2007, de investigación biomédica, el Real Decreto 1716/2011, de 18 de noviembre, por el que se establecen los requisitos básicos de autorización y funcionamiento de los biobancos con fines de investigación biomédica y del tratamiento de las muestras biológicas de origen humano, y se regula el funcionamiento y organización del Registro Nacional de Biobancos para investigación biomédica, la ORDEN SAS/3470/2009, de 16 de diciembre, por la que se publican las Directrices sobre estudios posteriores a la autorización de tipo observacional para medicamentos de uso humano, y el RD 1090/2015, de 4 de diciembre, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, los Comités de Ética de la Investigación con medicamentos y Registro Español de Estudios Clínicos.

- La idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio, justificación de los riesgos y molestias previsibles para el sujeto, así como los beneficios esperados.
- Los principios éticos de la Declaración de Helsinki vigente.
- Los procedimientos normalizados del trabajo del Comité.

6.7 **Diseño de análisis estadístico**

Se realizó un análisis descriptivo de todas las variables recogidas, mediante frecuencias y porcentajes para el caso de variables cualitativas y medidas de centralización y dispersión para las cuantitativas. Se analizaron variables asociadas con una mayor probabilidad de diagnóstico histológico de alto riesgo. En el análisis bivariado, la comparación de porcentajes se realizó mediante el test chi cuadrado o el test exacto de Fisher. Para la comparación de parámetros cuantitativos, se empleó el test de Mann-Whitney.

Se determinó la capacidad de los marcadores inmunohistoquímicos para discriminar entre diferentes características clínicas de las lesiones mediante curvas ROC. En el análisis multivariante se utilizaron modelos de regresión logística.

Para analizar la supervivencia libre de recidiva local se emplearon modelos de supervivencia basados en riesgos competitivos, considerando la muerte como

un riesgo que “compite” con la probabilidad de presentar recidiva. Se utilizó el método propuesto por Kalbfleisch y Prentice (1980), comparando la incidencia acumulada de recidiva según diferentes características utilizando el test propuesto por Gray (1988).







PARTE III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN





7

Análisis descriptivo de parámetros a estudio

7.1 Parámetros clínicos

De los 68 casos de OSSN incluidos en nuestra muestra, se observó un predominio de las mismas en hombres (46/22), 67,6 % (Fig. 7.1). La distribución de nuestra población a lo largo de los años de estudio se puede observar en la Figura 7.2, donde queda reflejada la tendencia lineal al aumento de la incidencia de estas neoplasias. La tendencia monótona observada de los casos de OSSN es estadísticamente significativa ($p=0,02$) con una pendiente de Sen de 0,2 (IC: 0-0,4), es decir, 0,2 casos/año de aumento (Mann-Kendall test, two-sided). El rango de edad de los pacientes a la hora de establecer el diagnóstico osciló entre 22 y 91 años. Existe una clara concentración en edades comprendidas entre 65 y 85 años, siendo más elevada la tasa en el grupo de edad 70-80 años, persistiendo de igual manera, el predominio en hombres (Fig. 7.3).

El síntoma o signo principal que llevó a los pacientes a nuestra consulta de oftalmología fue variado (Fig. 7.4). La mayoría de los pacientes habían notado la aparición de una lesión en uno de sus ojos; siendo el enrojecimiento ocular y la sensación de cuerpo extraño, otros de los síntomas clave. El tiempo medio transcurrido desde la aparición de la clínica ocular hasta que el paciente acude para valoración oftalmológica fue de 16,5 meses (mediana=12; desviación típica=15,4; rango=1-72).

Todos los pacientes estudiados son de raza blanca, siendo la mayoría de ellos de piel clara (50/68) y presentando con mayor frecuencia manchas cutáneas (18/50),

(Fig. 7.5). Un alto porcentaje de estos pacientes trabajaban o habían trabajado al aire libre (69,1 %), (Fig. 7.6). El hábito tabáquico se recoge en la Figura 7.7, en la que se ve un predominio en fumadores varones. El tamaño de las OSSN se midió en husos horarios, estratificándose en tres subgrupos (1–3 horas; 4–6 horas; >6 horas), en función de su extensión córneo–conjuntival. Más del 50 % de los casos (35/68) presentaron lesiones de tamaño entre 1–3 horas, mientras que solo en un 9 % de ellos (6/68) la afectación fue superior a 6 horas (Fig. 7.8).

La mayoría de las lesiones de pequeño tamaño (62,8 %), presentaba al diagnóstico un aspecto papilomatoso, mientras que entre las neoplasias de mayor tamaño el aspecto que dominaba era el gelatinoso (57,6 %). La mayor parte de las OSSN afectaba la conjuntiva o simultáneamente la conjuntiva y la córnea y se localizaba en la región interpalpebral (63,2 %), siendo la afectación exclusivamente corneal muy poco frecuente (5,9 %). El diagnóstico histopatológico de las muestras de nuestro estudio se obtuvo tras la valoración clínica de las lesiones en la consulta de oftalmología, donde se decidió en función de sus características si se realizaba biopsia escisional o incisional de las mismas, previa al inicio del tratamiento. El tratamiento empleado inicialmente lo resumimos en: tratamiento médico (MMC, IFN α 2b tópico o intralesional), escisión quirúrgica con crioterapia, con o sin fármacos coadyuvantes como se detalla en la Tabla 7.1.

En la Tabla 7.1 se observan diferencias estadísticamente significativas ($p=0,064$) en lo que se refiere al tamaño del tumor. El 69,2 % de las OSSN tratadas con fármacos tópicos o intralesionales fueron lesiones de pequeño tamaño. Las lesiones de mayor tamaño fueron tratadas mediante cirugía escisional con crioterapia (13/33) o cirugía escisional con crioterapia y fármacos coadyuvantes (12/33).

En la Tabla A.1 se exponen los valores de las variables clínicas correspondientes a cada pacientes.

7.1. Parámetros clínicos

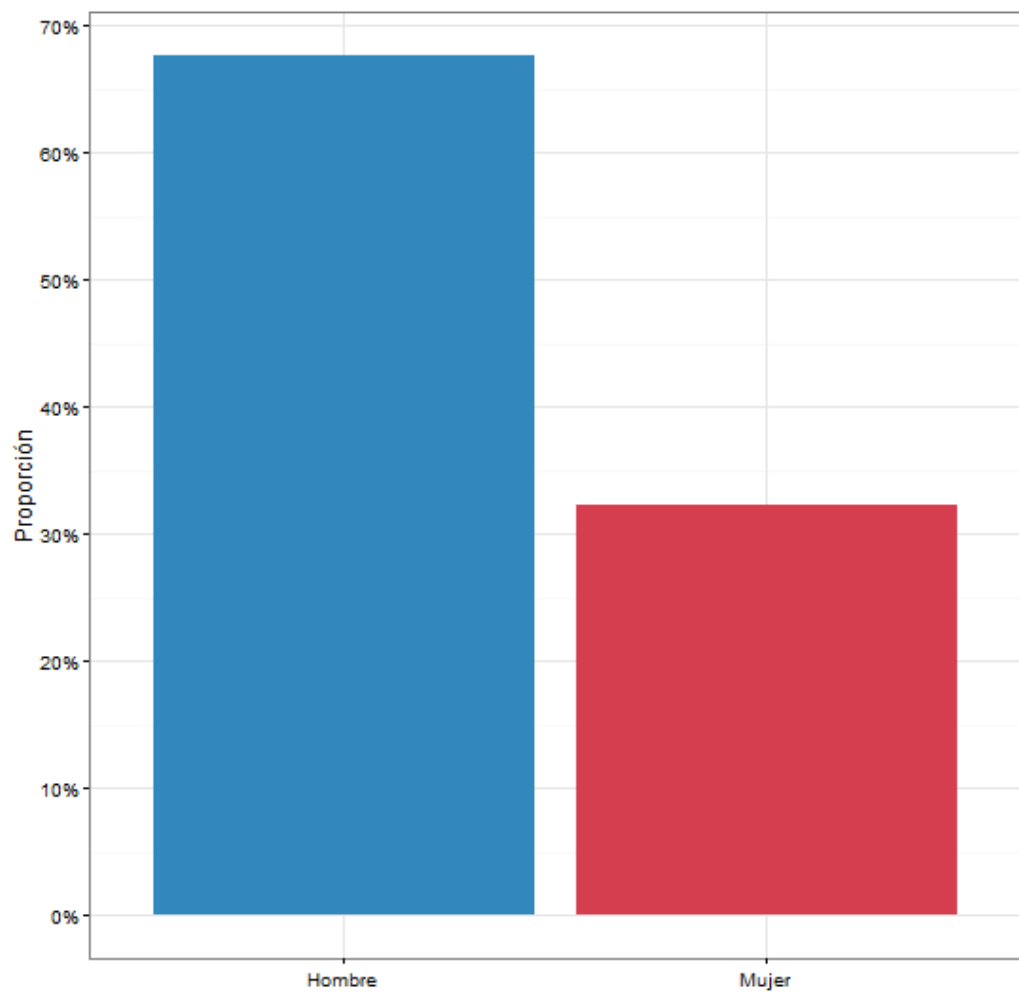


Figura 7.1: Distribución de las OSSN por sexo.

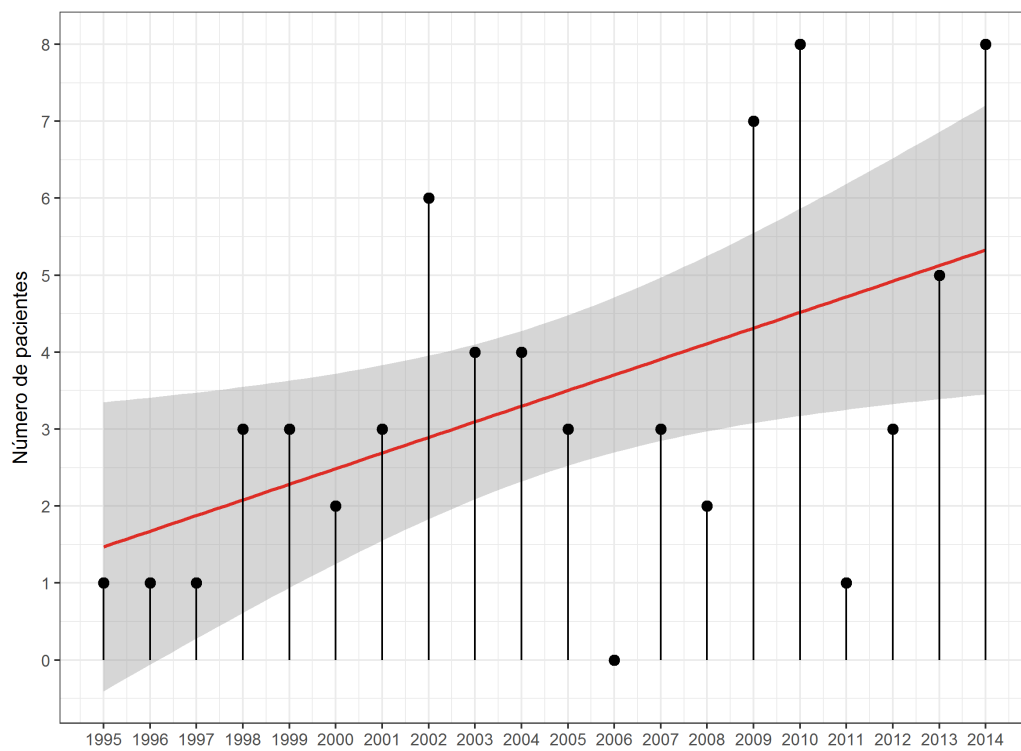


Figura 7.2: Distribución de las OSSN por año de diagnóstico.

7.1. Parámetros clínicos

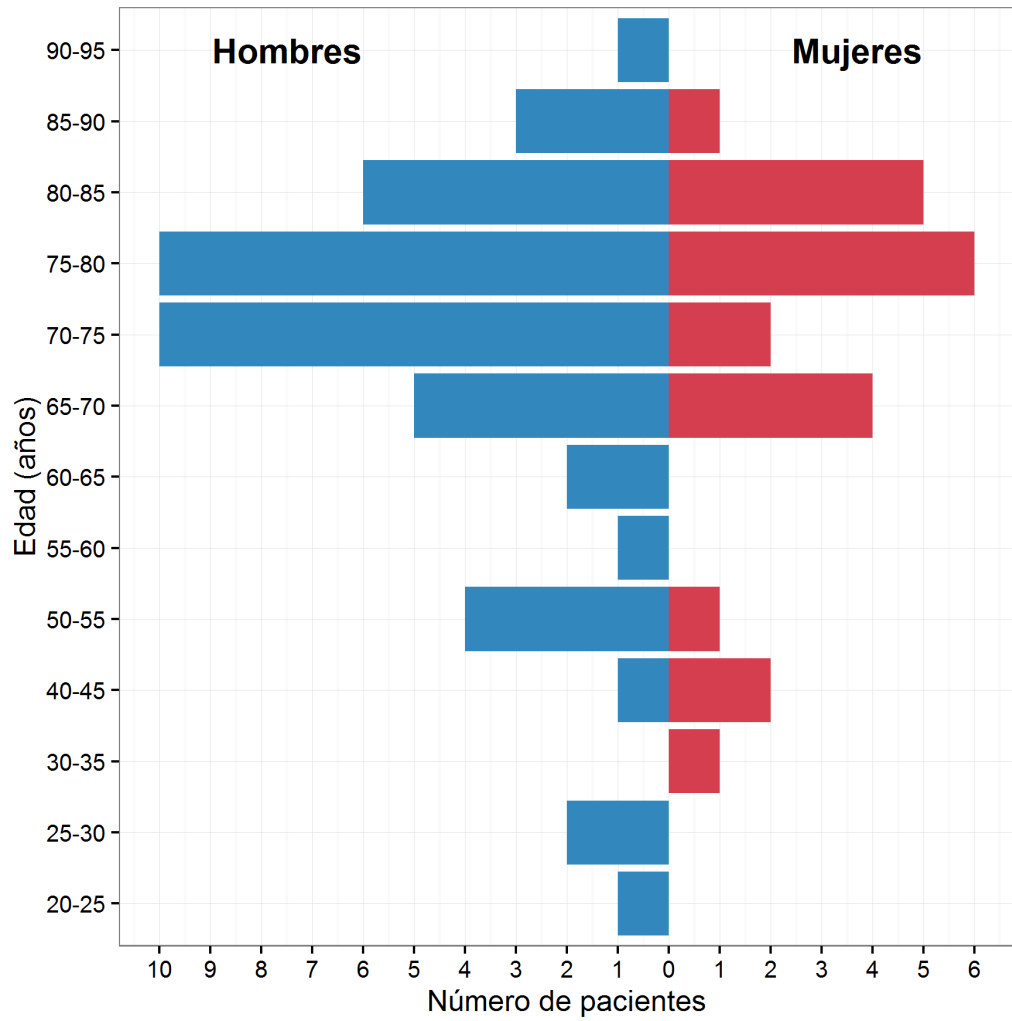


Figura 7.3: Distribución de las OSSN por edad y sexo.

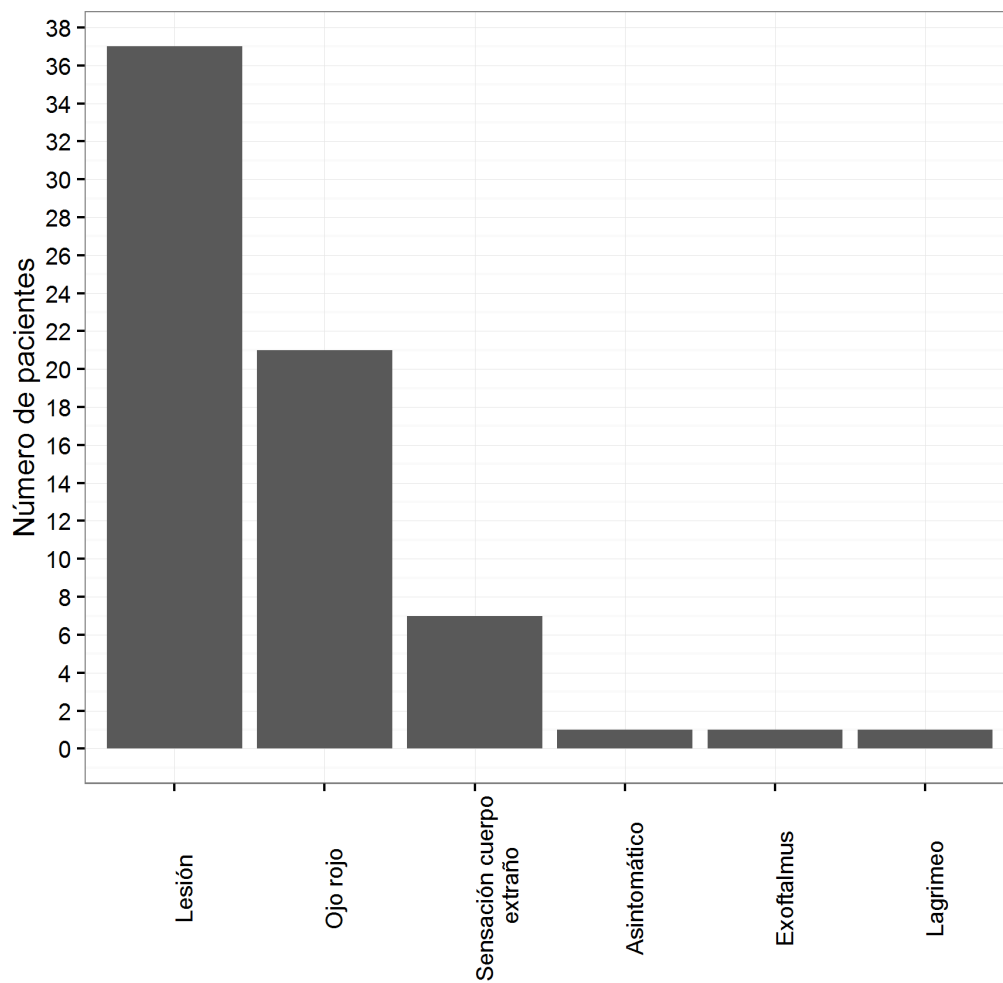


Figura 7.4: Síntoma o signo por el que acude el paciente a la consulta de oftalmología.

7.1. Parámetros clínicos

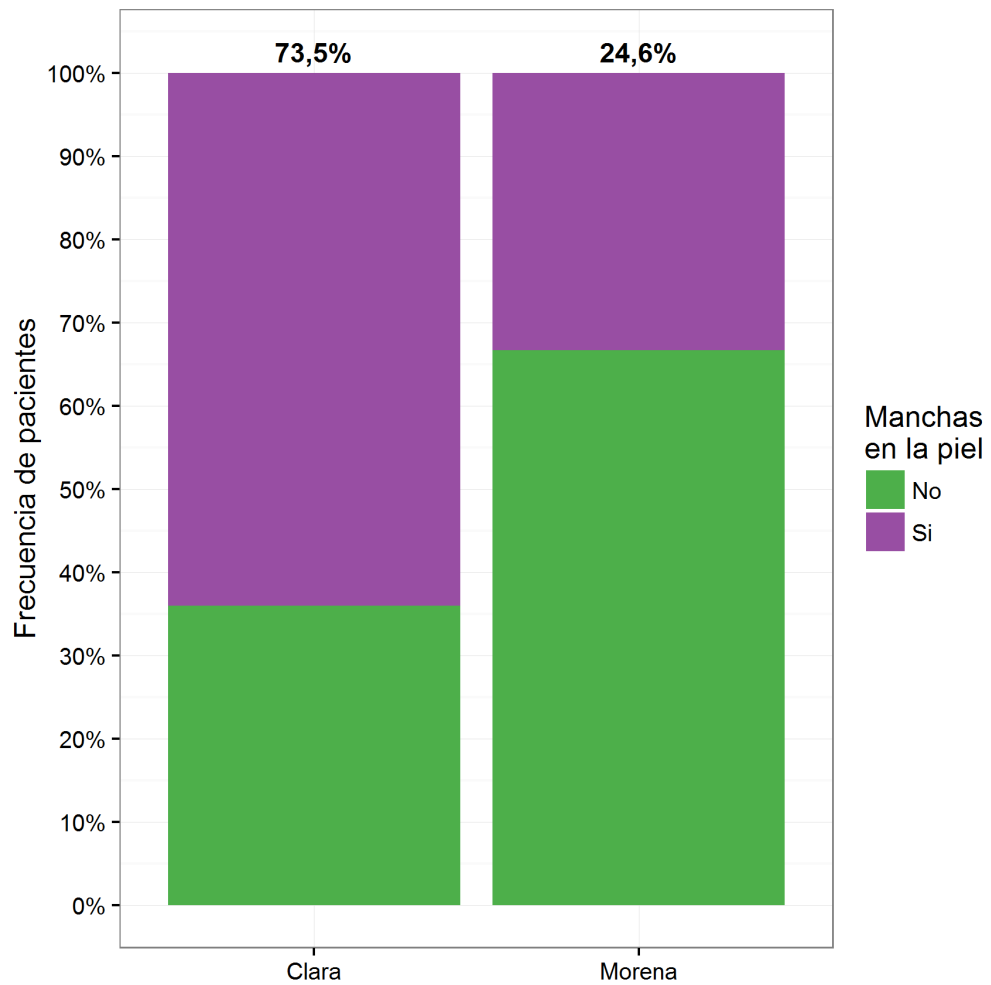


Figura 7.5: Distribución relativa de las OSSN según el color de piel del paciente y la presencia de manchas cutáneas.

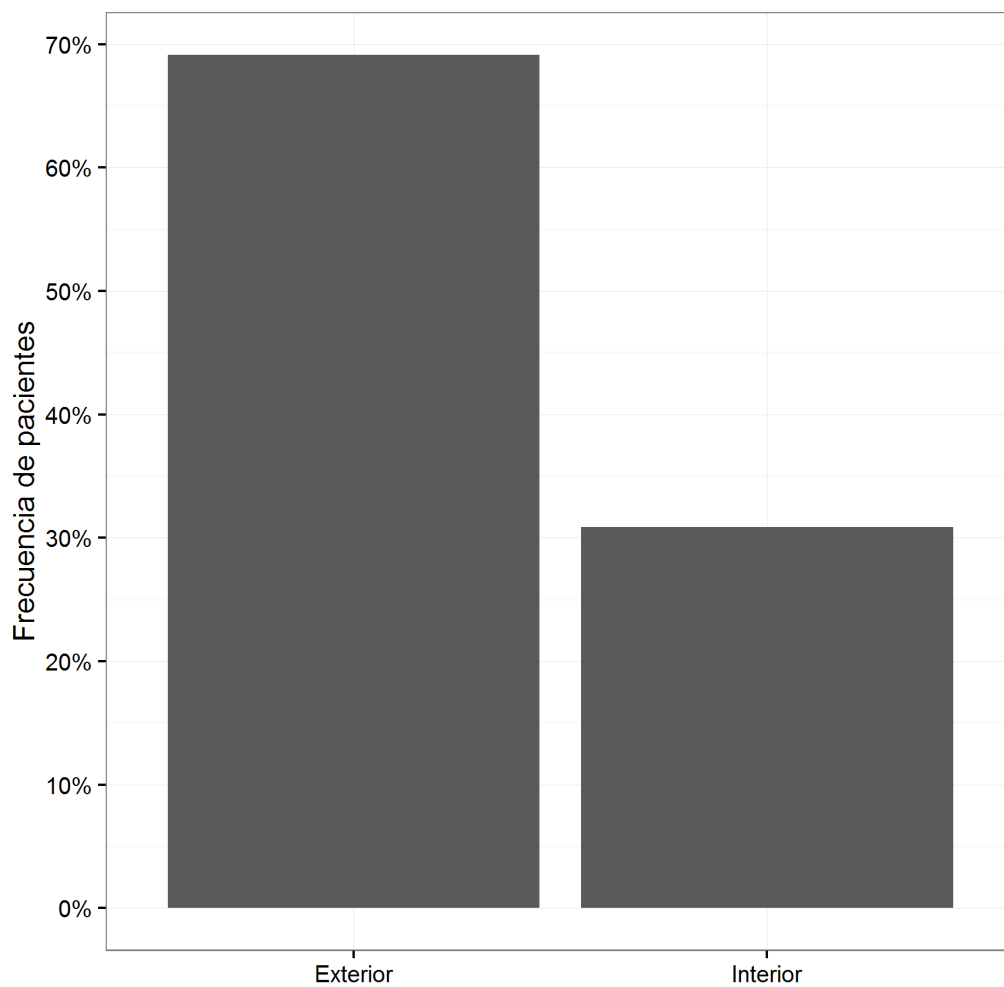


Figura 7.6: Distribución relativa de las OSSN según el lugar de trabajo de cada paciente.

7.1. Parámetros clínicos

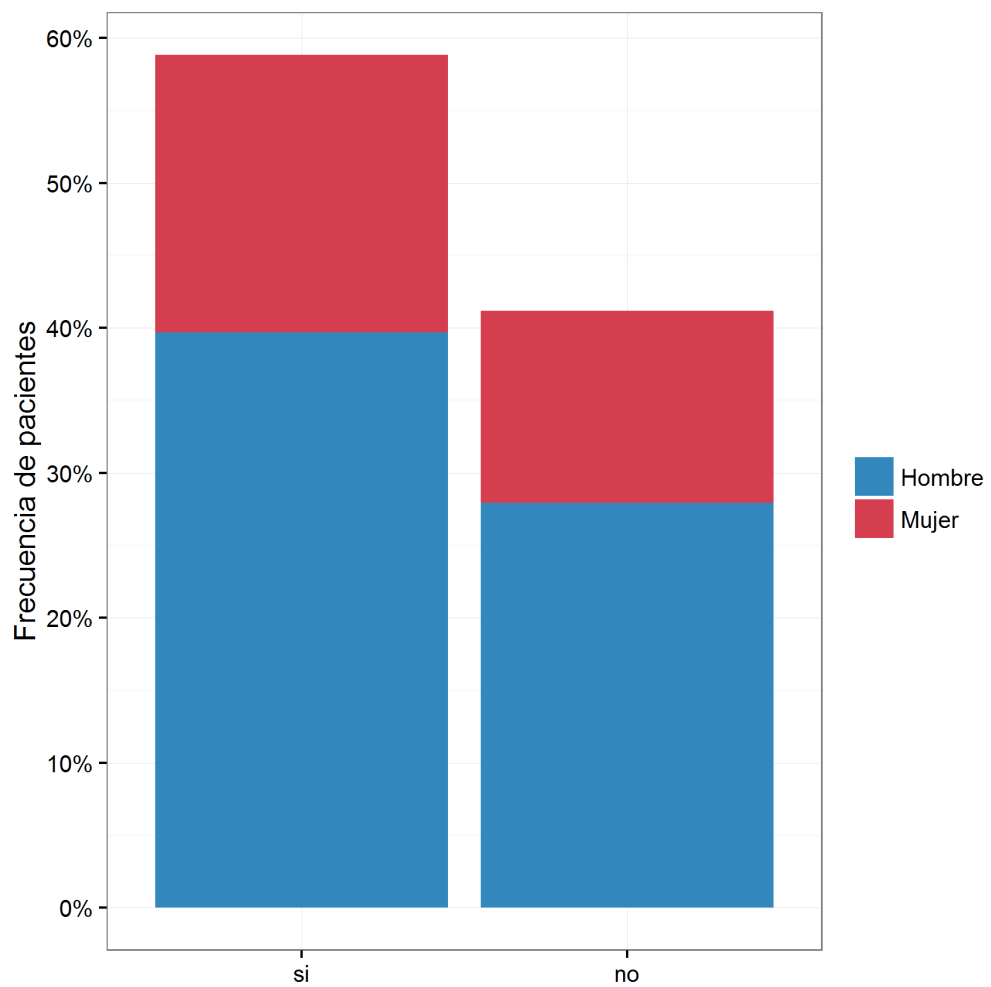


Figura 7.7: Distribución de las OSSN por hábito tabáquico y sexo.

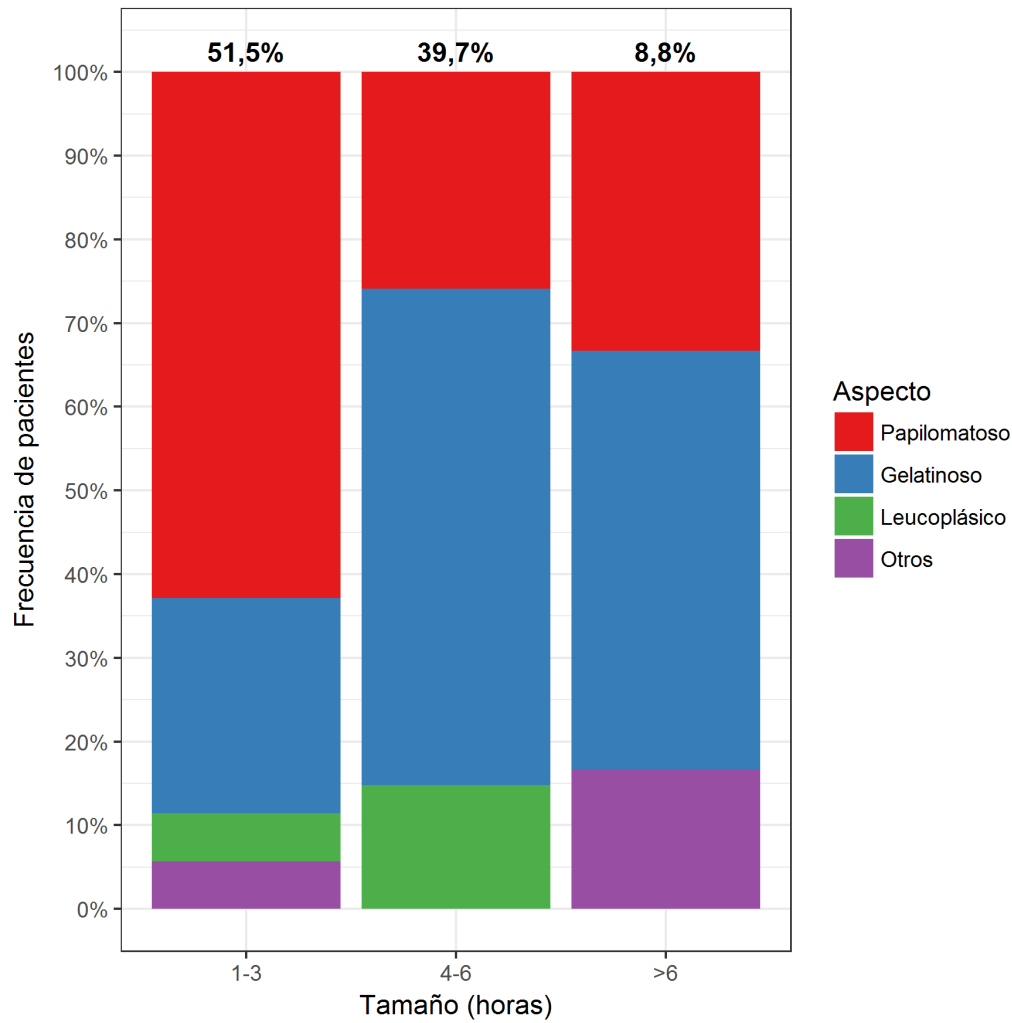


Figura 7.8: Distribución de las OSSN por tamaño y aspecto clínico.

7.1. Parámetros clínicos

Tabla 7.1: Tratamiento de las OSSN en función de sus características clínicas e histopatológicas

	Tratamiento al diagnóstico			<i>p</i>
	Cirugía	Cirugía + Fármacos coadyuvantes	Fármacos	
Tamaño				
1-3 horas	10	7	18	0,064
≥4 horas	13	12	8	
Aspecto lesión				
gelatinoso/papilomatoso	23	17	19	0,54
leucoplásico	0	0	6	
Tejido afectado				
conjuntiva	8	10	16	0,168
córnea/conjuntiva+córnea	15	9	10	
Localización				
temporal/nasal	15	13	15	0,74
otra localización	8	6	11	
Histopatología				
displasia leve/moderada	6	6	10	0,65
displasia severa/carcinoma	17	13	16	

7.2 Parámetros histopatológicos

La distribución de las OSSN desde el punto de vista histopatológico (Fig. 7.9) fue de 36 casos (53 %) de displasias (displasias leves 11 (16,2 %), displasias moderadas 11 (16,2 %), displasias severas 14 (20,6 %)) y 32 casos (47 %) de carcinomas (CIS 7 (10,3 %), carcinoma invasivo 25 (36,7, %)).

El grado de diferenciación histopatológica de los carcinomas se definió como bien diferenciado y pobremente o mal diferenciado (Fig. 7.10). De los 32 carcinomas diagnosticados, 25 (78,1 %) fueron bien diferenciados y 6 (18,7 %) pobremente diferenciados. En uno de los pacientes con CIS no se hallaba recogido el dato de diferenciación histopatológica.

En el 9 % (6/68) de los pacientes, se detectó invasión intraocular o intraorbitaria. En la Tabla A.2 se exponen los valores correspondientes al aspecto clínico y diagnóstico histopatológico de cada una de las lesiones.

7.2. Parámetros histopatológicos

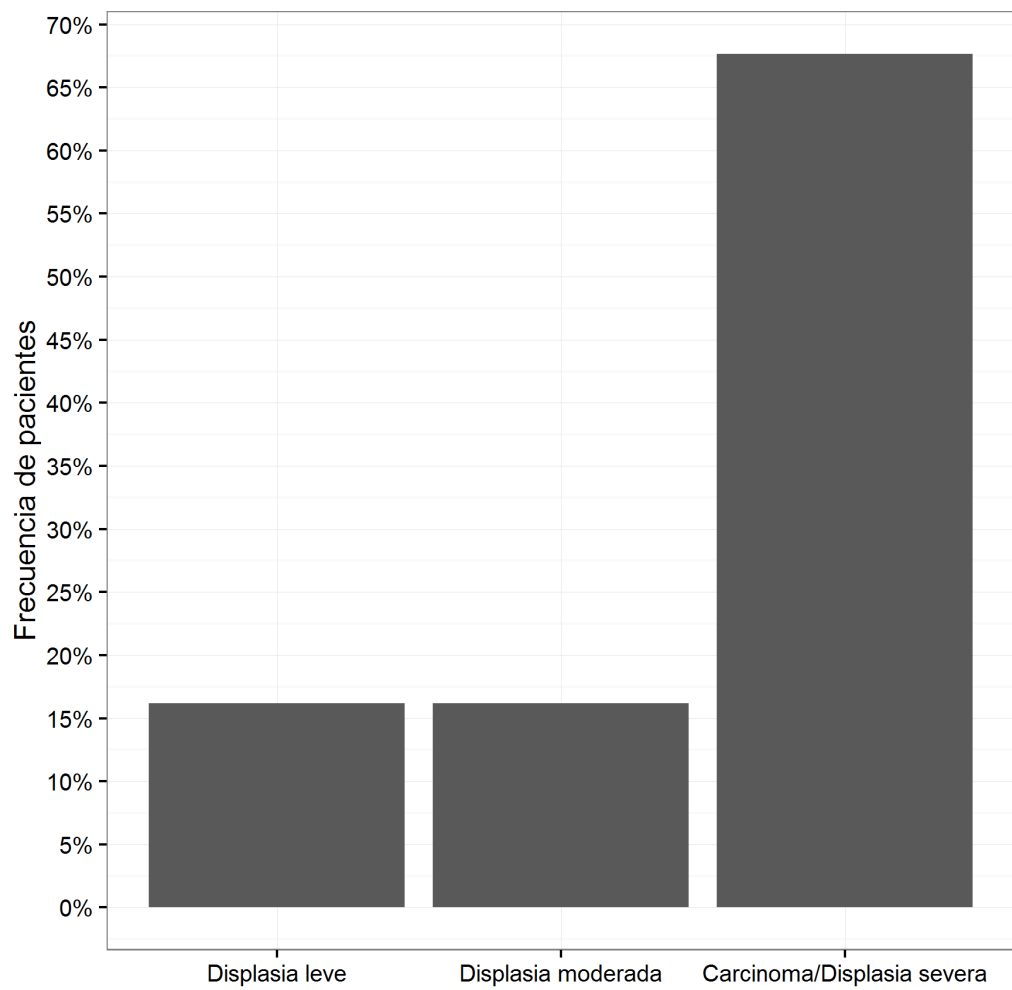


Figura 7.9: Distribución relativa de las OSSN según su diagnóstico histopatológico.

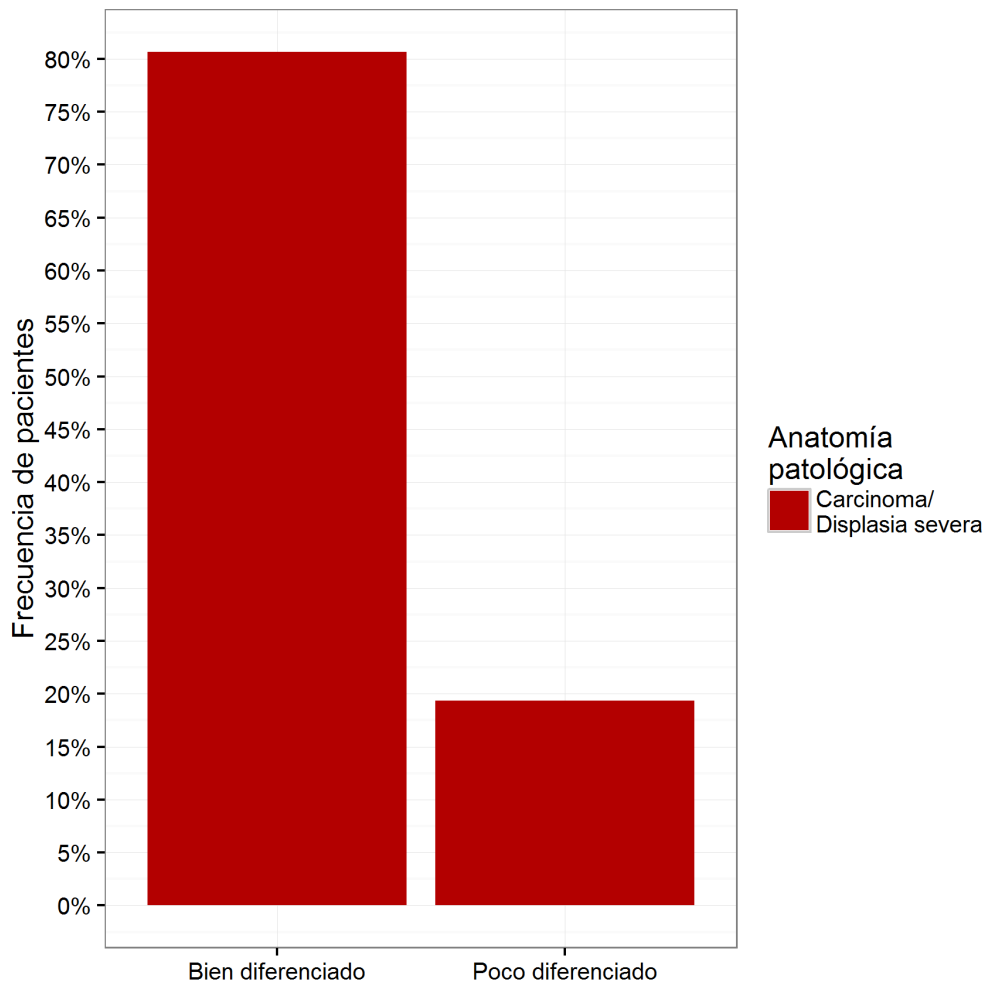


Figura 7.10: Distribución de los carcinomas/displasias severas en función de su grado de diferenciación histopatológica.

7.3 Parámetros inmunohistoquímicos

■ Valoración de la expresión de Ki-67

De las 68 OSSN estudiadas, la determinación IHQ de la expresión de Ki-67 la realizamos en 42 muestras: 7 displasias leves, 4 displasias moderadas, 5 displasias severas, 6 CIS, 20 carcinomas invasivos.

La mediana del índice de positividad de Ki-67 fue de 24 % (desviación típica: 25; rango: 2–87).

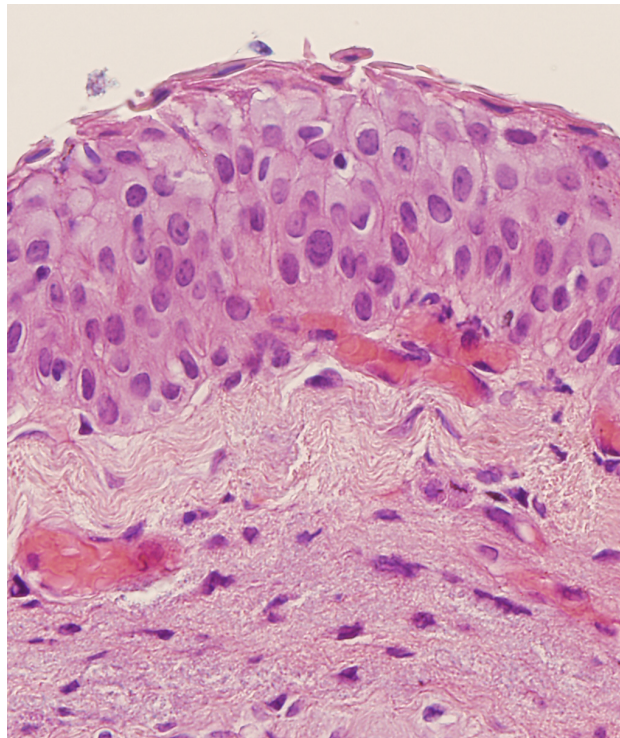
■ Valoración de la expresión de p21

El análisis de la proteína p21 también se llevó a cabo en 42 muestras (7 displasias leves, 4 displasias moderadas, 5 displasias severas, 6 CIS, 20 carcinomas invasivos), siendo en este caso la mediana del índice de positividad de p21 de 4,5 % (desviación típica: 12; rango: 0–55).

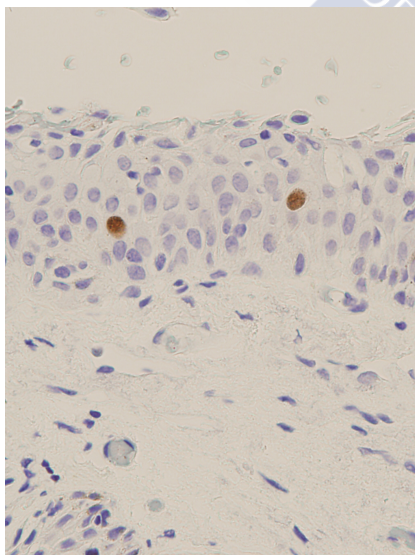
Los datos de positividad de Ki-67 y p21, referentes a cada uno de los subgrupos histopatológicos (Fig. 7.11, 7.12 y Fig. 7.13), se muestran en la Tabla 7.2. La representación gráfica de estos resultados la encontramos en la Figura 7.14 y Figura 7.15, donde se observa que en el caso de Ki-67, sí existen diferencias estadísticamente significativas entre el porcentaje de positividad de las displasias leves/moderadas y de las displasias severas/carcinomas; no así con el marcador p21, donde los intervalos de confianza de ambos grupos se superponen, no existiendo en este caso diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 7.2: Positividad de Ki-67 y p21 en las distintas OSSN

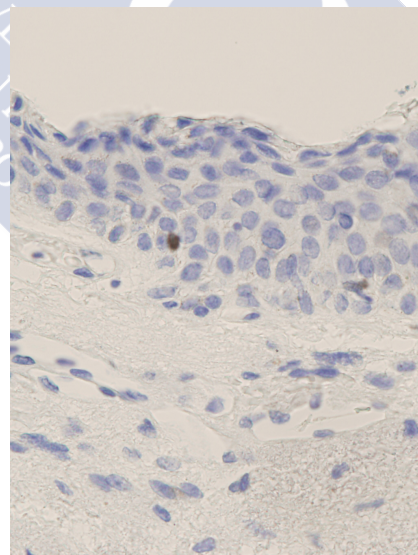
Diagnóstico Histopatológico	Ki-67			p21		
	N	Mediana	σ	N	Mediana	σ
Displasias leves/moderadas	11	5	24	11	3	6,4
Displasias severas/carcinomas	31	30	23,4	31	5	13,2



(a) Imagen histopatológica teñida con HE (aumento de objetivo, 40x)



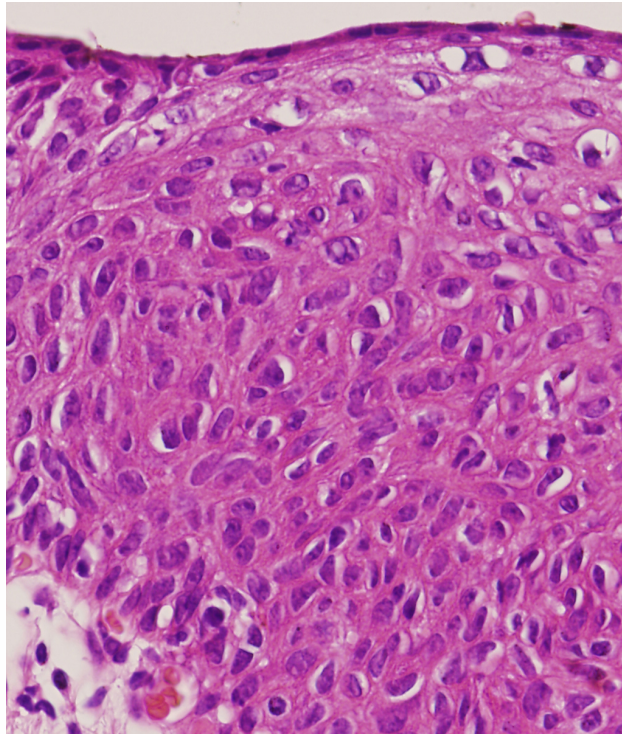
(b) IHQ Ki-67. Se observa inmunotinción en núcleos muy ocasionales (aumento de objetivo, 40x)



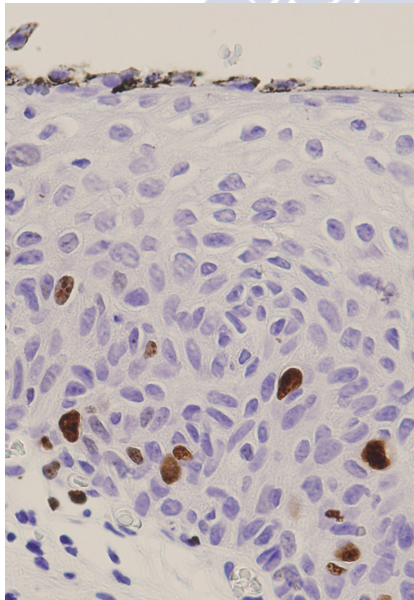
(c) IHQ p21. La imagen muestra inmunoreactividad muy focal (aumento de objetivo, 40x)

Figura 7.11: Displasia leve de la superficie ocular.

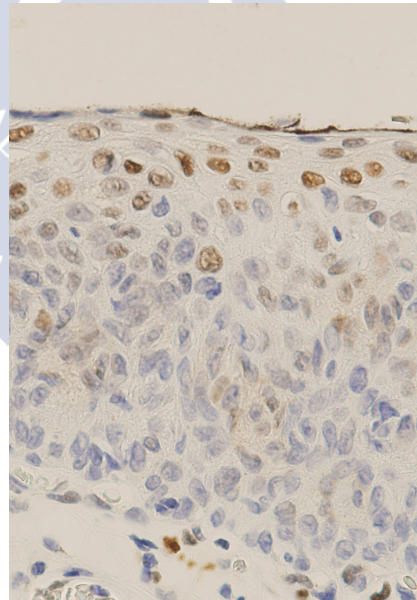
7.3. Parámetros inmunohistoquímicos



(a) Imagen histopatológica teñida con HE (aumento de objetivo, 40x)

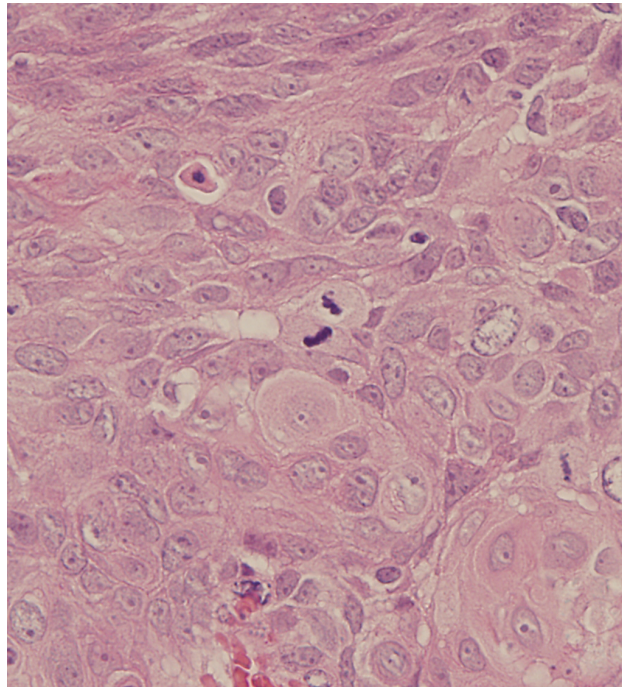


(b) IHQ Ki-67. Se observa moderada inmunoreactividad, localizada en la mitad basal del epitelio (aumento de objetivo, 40x)

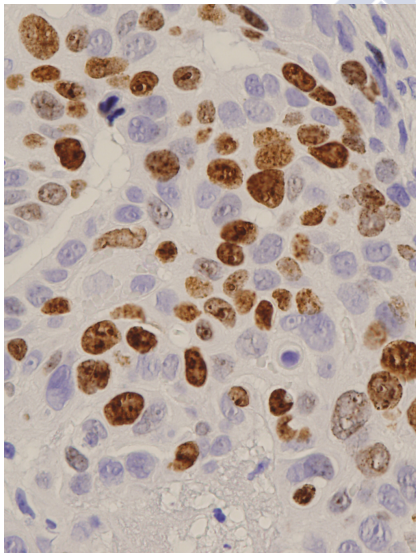


(c) IHQ p21. Se advierte moderada positividad, pero las células teñidas se sitúan en la porción superficial del epitelio (aumento objetivo, 40x)

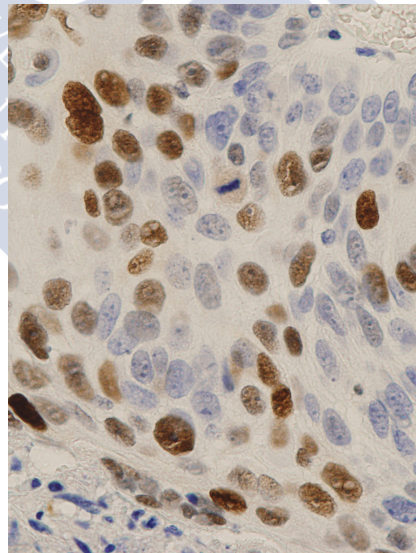
Figura 7.12: Displasia moderada de la superficie ocular.



(a) Imagen histopatológica teñida con HE (aumento de objetivo, 40x)



(b) IHQ Ki-67. Positividad nuclear en un porcentaje alto de células (aumento de objetivo, 40x)



(c) IHQ p21. Se aprecia asimismo una intensa inmunoreactividad nuclear (aumento objetivo, 40x)

Figura 7.13: Carcinoma epidermoide de la superficie ocular.

7.3. Parámetros inmunohistoquímicos

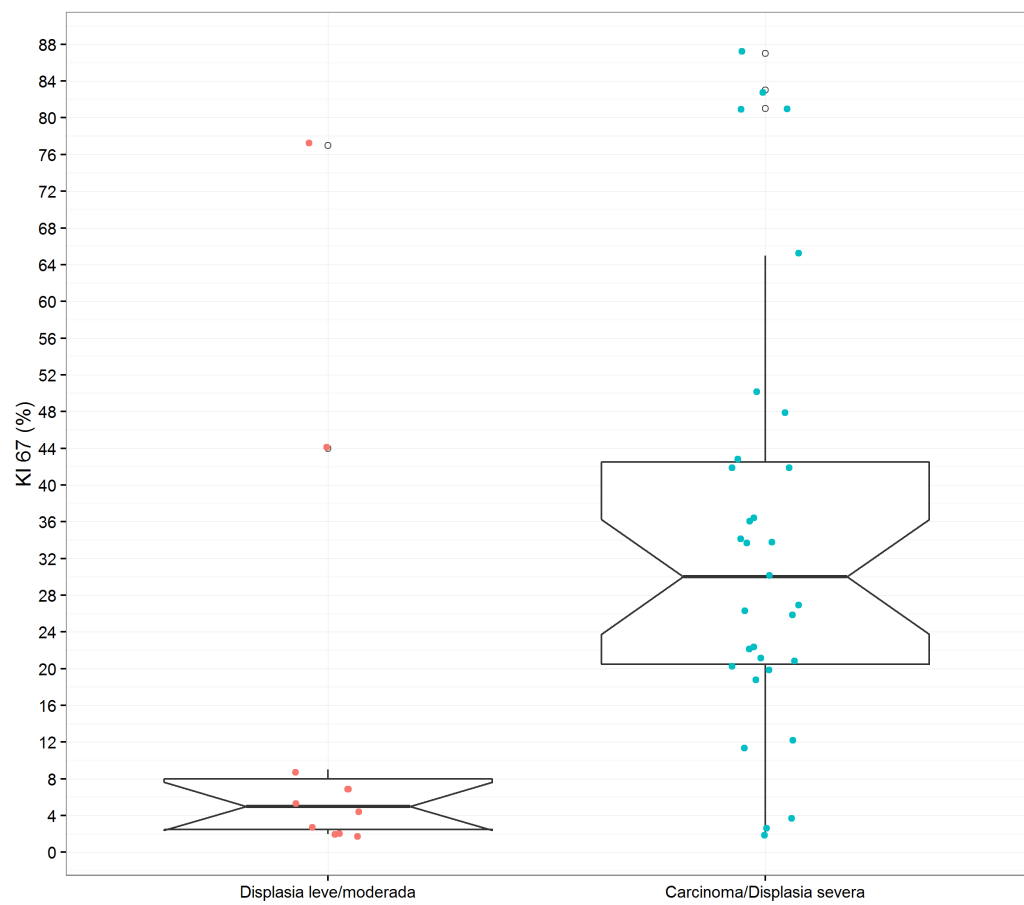


Figura 7.14: Distribución de los valores de Ki-67 en las OSSN.

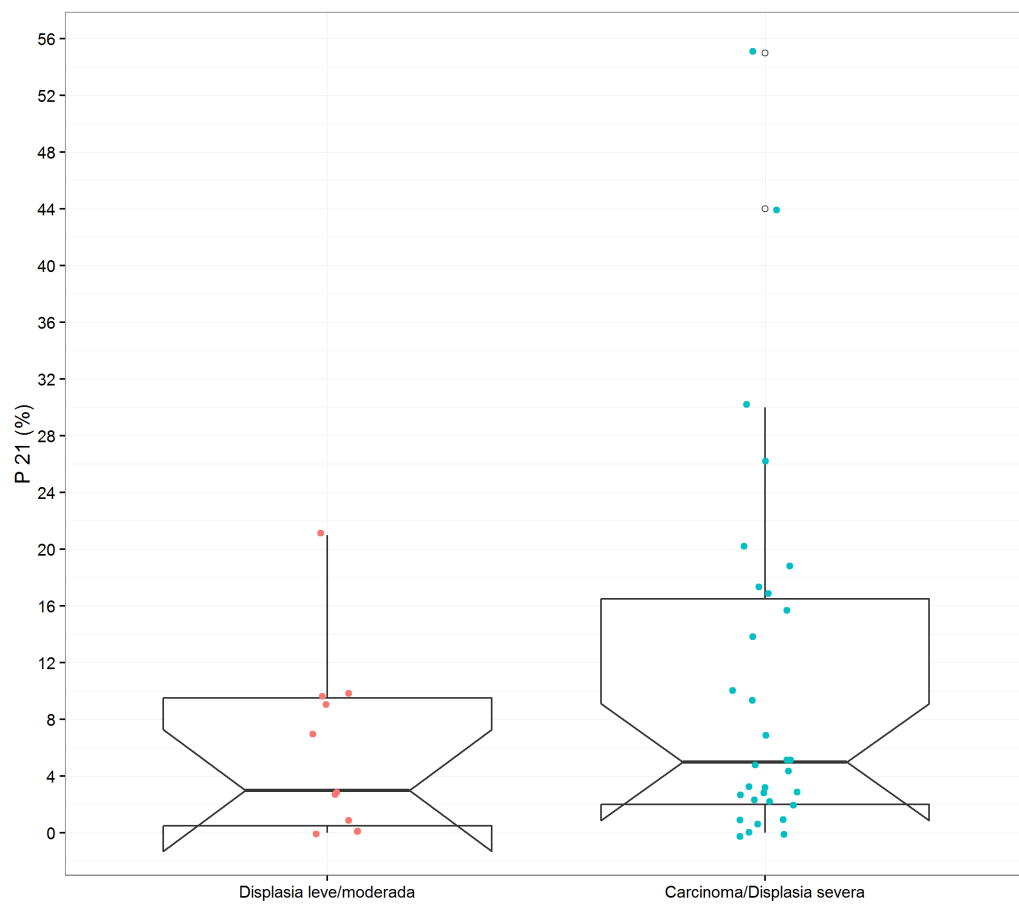


Figura 7.15: Distribución de los valores de p21 en las OSSN.

8

Relación entre parámetros clínicos, histopatológicos e inmunohistoquímicos

Las características clínicas de la lesión (localización, tamaño, aspecto clínico), podrían tener relación con la histopatología de las misma, como se puede observar en la Tabla 8.1, donde se ve que existen diferencias estadísticamente significativas en lo que se refiere a estos aspectos.

Tabla 8.1: Distribución histopatológica en relación a las características clínicas de las OSSN

	Displasia leve/moderada N(%)	Displasia severa/carcinoma N(%)	<i>p</i>
Localización			
t/n (interpalpebral)*	18 (41,9)	25 (58,1)	0,03
otra localización	4 (16,0)	21 (84,0)	
Tamaño			
1-3 horas	15 (42,9)	20 (57,1)	0,05
>4 horas	7 (21,2)	26 (78,8)	
Aspecto lesión			
gelatinoso/papilomatoso	17 (28,8)	42 (71,2)	0,08
leucoplásico	4 (66,7)	2 (33,3)	

* t/n temporal-nasal

Las OSSN que no se localizan a nivel del limbo interpalpebral, las de mayor tamaño y las de aspecto gelatinoso o papilomatoso, son con mayor frecuencia displasias severas o carcinomas.

Se realizó una regresión logística donde se obtuvieron valores estadísticamente significativos en lo que respecta a la localización (diferente a región nasal/temporal interpalpebral), el tamaño (>4 horas) y el aspecto (gelatinoso/papilomatoso), presentando una OR de 4,67, 3,35 y 11,05 respectivamente como se puede observar en la Tabla 8.2. En la Tabla 8.3, se recogen los valores de Ki-67 y p21 para las OSSN estudiadas, en función de sus características clínicas e histopatológicas.

Tabla 8.2: Regresión logística: características clínicas relacionadas con mayor probabilidad de diagnóstico histopatológico de alto riesgo

Características clínicas	OR (IC95 %)
Localización (no interpalpebral)	4,67 (1,14; 19,14)
Tamaño (≥ 4)	3,35 (0,99; 11,39)
Aspecto lesión (gelatinoso/papilomatoso)	11,05 (1,35; 90,11)

En el caso de Ki-67, las displasias leves o moderadas presentan un valor medio de positividad del 5,0 %, mientras que en grupo de displasias severas o carcinomas, este valor aumenta a 30,0 %, existiendo diferencias estadísticamente significativas para estos grupos ($p=0,003$). En lo que se refiere a p21, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ($p=0,365$), siendo el valor de positividad para las displasias leves o moderadas del 3,0 % y para las severas o carcinomas del 5,0 %.

Al estudiar los valores de los marcadores inmunohistoquímicos en función del tejido afectado por la OSSN, conjuntiva, córnea o ambos tejidos simultáneamente, se vió que los valores de ambos marcadores eran mayores si la lesión afectaba a la conjuntiva y a la córnea simultáneamente, siendo el grado de significación estadística más evidente para p21. No se obtuvieron datos de las neoplasias corneales porque no se disponía de material suficiente para realizar el estudio inmunohistoquímico.

En lo que se refiere a la localización de las OSSN a nivel del limbo nasal-temporal o en otras localizaciones, el valor de Ki-67 fue significativamente más elevado en aquéllas localizadas fuera de la zona interpalpebral.

Los marcadores inmunohistoquímicos no mostraron diferencias significativas en lo que respecta al tamaño ni al aspecto de las OSSN, como se puede ver en la Tabla 8.3.

Se realizó una curva ROC para intentar establecer un valor de corte para cada uno de los marcadores inmunohistoquímicos que sirviera para orientar sobre la evolución de las OSSN (Fig. 8.1). En el caso del Ki-67 el área bajo la curva fue significativamente mayor a la hipótesis nula ($p=0,04$), no siendo así en lo que se refiere a p21 ($p=0,35$), como se observa en la Figura 8.1. Realizando el análisis de las coordenadas de la curva para Ki-67, el valor con mayor sensibilidad y especificidad resultó ser de 10. En la Tabla A.2 se representan los valores de cada marcador IHQ (Ki-67 y p21) en relación al aspecto clínico y al tipo histopatológico de los casos estudiados.



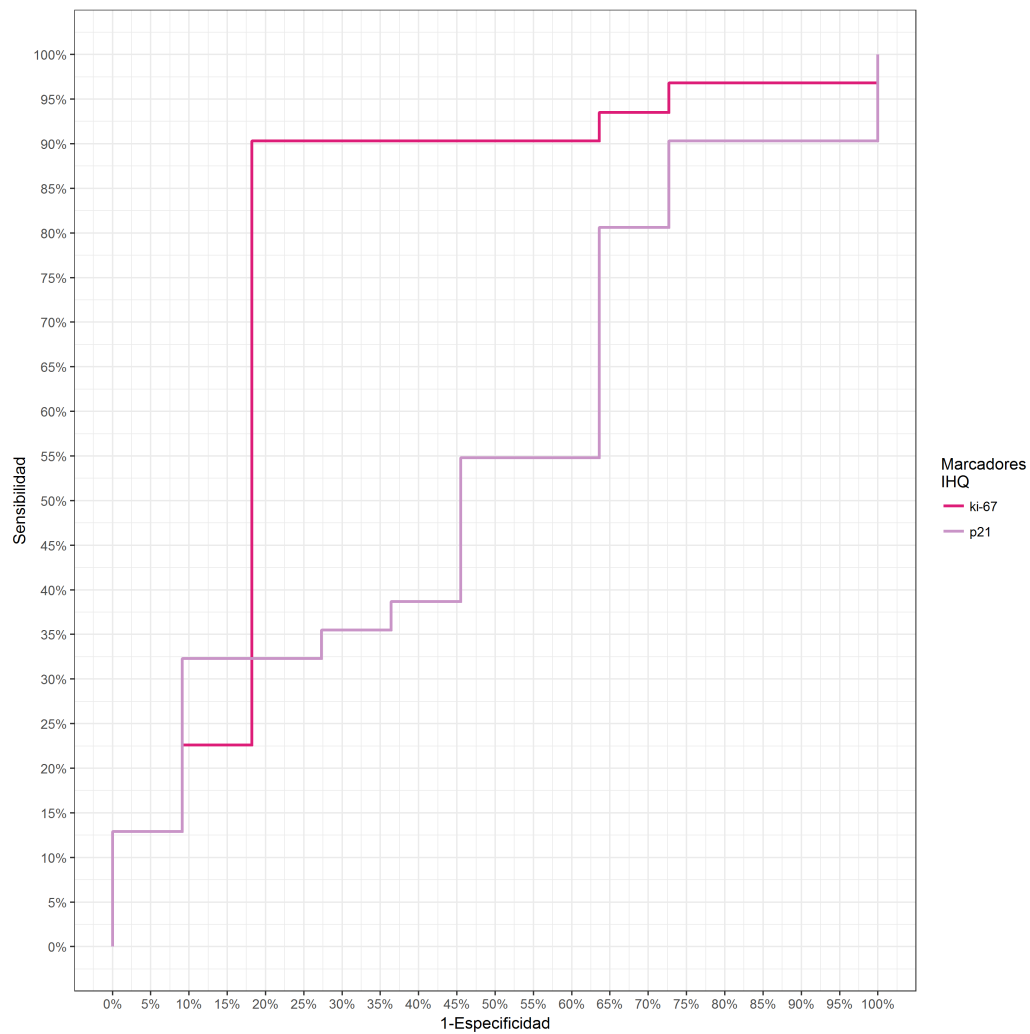


Figura 8.1: Curva ROC – Ki-67 y p21– evolución de OSSN.

Tabla 8.3: Valor de marcadores inmunohistoquímicos según características clínicas e histopatológicas de las OSSN

IHQ	Histopatología y clínica	N	mediana	σ	p
Diagnóstico histopatológico					
Ki-67	Displasia leve/moderada	11	5	24	0,003
	Displasia severa/carcinoma	31	30	23,5	
p21	Displasia leve/moderada	11	3	6,5	0,365
	Displasia severa/carcinoma	31	5	13,2	
Tejido afectado					
Ki-67	Conjuntiva	19	21	15,4	0,097
	Conjuntiva+córnea	22	34	29,5	
p21	Conjuntiva	19	3	5,3	0,011
	Conjuntiva+córnea	22	8	14,5	
Localización					
Ki-67	Temporal/nasal	27	20	21,4	0,021
	Otras localizaciones	15	36	27,2	
p21	Temporal/nasal	27	4	11,1	0,551
	Otras localizaciones	15	5	13,3	
Tamaño (horas)					
Ki-67	1-3	19	22	25,4	0,463
	≥4	23	27	24,5	
p21	1-3	19	3	8,7	0,551
	≥4	23	5	14,21	
Aspecto					
Ki-67	gelatinoso	20	21,5	24,5	0,463
	papilomatoso	18	26	26,5	
	leucoplásico	2	42	32,5	
p21	gelatinoso	20	3,5	10,2	0,551
	papilomatoso	18	8	14,1	
	leucoplásico	2	10,5	13,4	



9

Análisis supervivencia libre de recidiva local

La probabilidad de recidiva tumoral a los 5 años de seguimiento se objetivó en torno a un 23,8 %, siendo la probabilidad de seguir vivo y sin recidiva en ese mismo momento de un 63,0 % (Tab. A.6). La distribución de las recurrencias en función del diagnóstico histopatológico se recoge en la Figura 9.1.

Se estudió el riesgo de recidiva en función del *diagnóstico histopatológico* (Tab. A.7). Los pacientes con displasias leves o moderadas presentaban al año de seguimiento una probabilidad de recidiva del 13,6 % frente al 26,08 % en pacientes con displasias severas o carcinomas (Fig. 9.2). A los 5 años de seguimiento la probabilidad de recidiva en el grupo de displasias severas o carcinomas aumentaba hasta un 28,6 % ($p=0.25$), manteniéndose en un 13,6 % en el grupo de displasias leves o moderadas. La probabilidad de seguir vivo sin recidiva fue menor en el grupo de displasias severas o carcinomas. Así, la supervivencia libre de recidiva a los 5 años fue del 86,4 % en pacientes con displasias leves o moderadas, frente al 52,7 % en los casos de displasias severas o carcinomas.

Se analizó el riesgo de recidiva tumoral en función del *tamaño* de la OSSN al diagnóstico (Tab. A.8). La probabilidad de recidiva en los pacientes con tumores de mayor tamaño al año de seguimiento fue del 36,30 % mientras que en los que tenían tumores de menos de 4 horas fue tan solo del 8 % (Fig. 9.3). A los cinco años del seguimiento, la probabilidad en los tumores más grandes ascendía hasta el 40 %, encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p=0,0095$; $HR=5,22$; $IC95 \%(1,5-18,2)$).

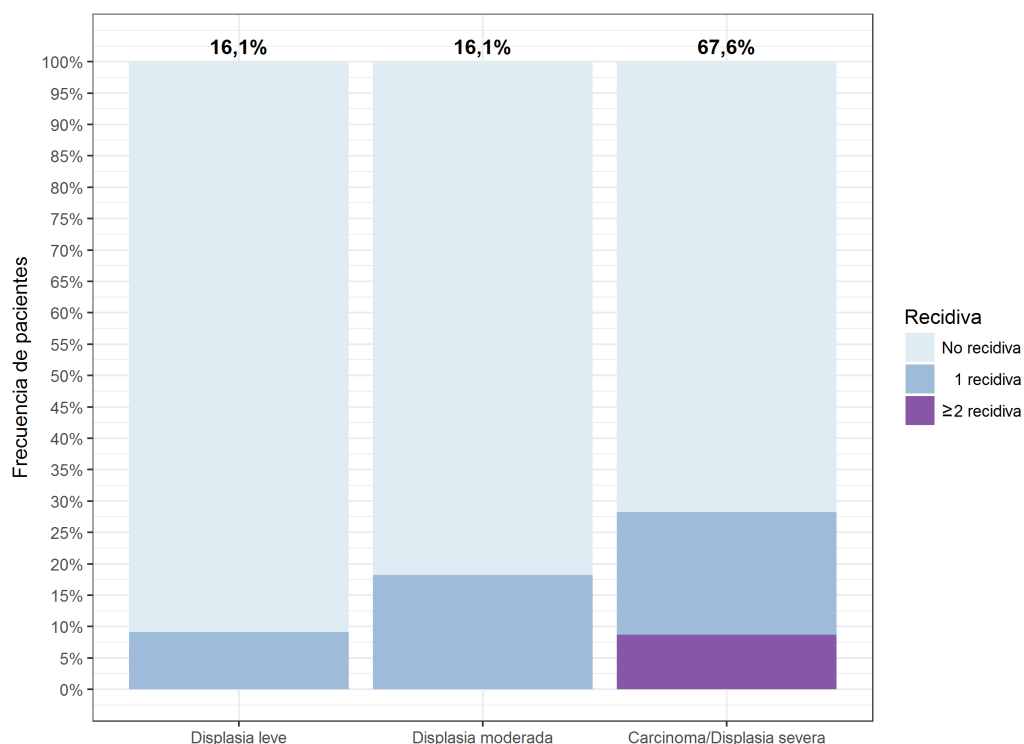


Figura 9.1: Distribución de las recidivas según el diagnóstico histopatológico de las OSSN.

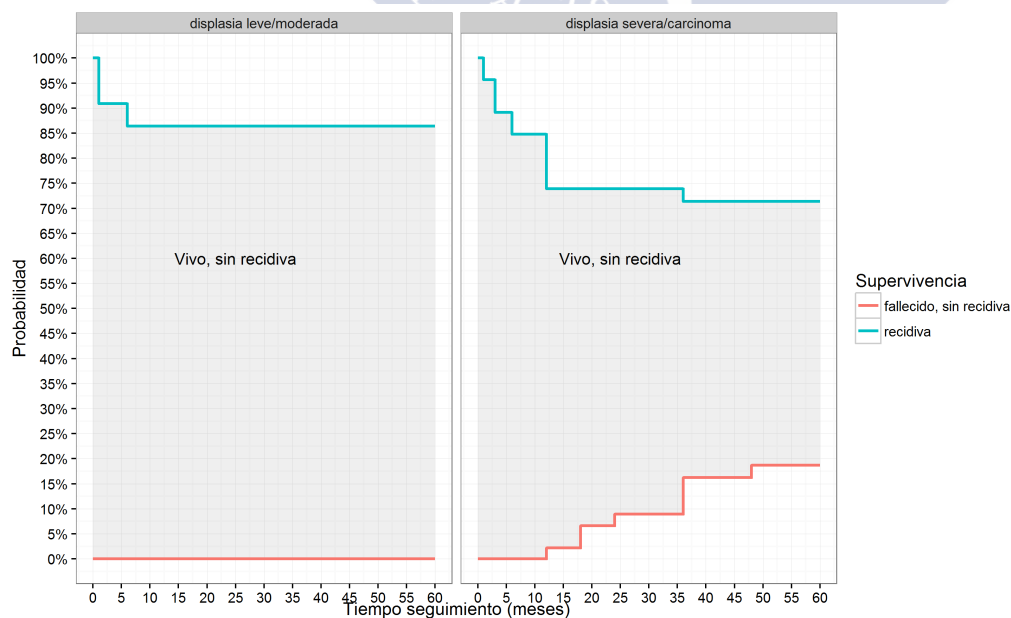


Figura 9.2: Probabilidad de recidiva de las OSSN según su diagnóstico histopatológico.

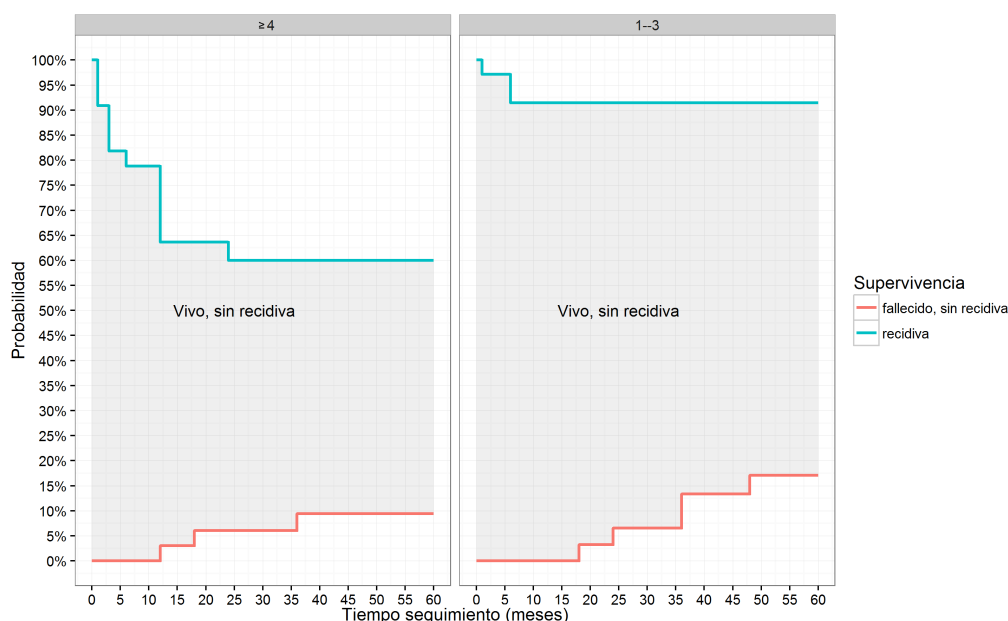


Figura 9.3: Probabilidad de recidiva de las OSSN según su tamaño

La supervivencia libre de recidiva a los 5 años fue del 50,57 % en el grupo de OSSN de mayor tamaño frente al 74,37 % en el caso de las OSSN entre 1–3 horas. El riesgo de recidiva en función de la *localización* de la OSSN también fue calculado (Fig. 9.4). En este caso, los riesgos de recidiva de las neoplasias localizadas a nivel del limbo nasal/temporal con respecto a aquéllas ubicadas en otras localizaciones caminaban prácticamente parejos a lo largo de los meses de seguimiento, no observándose diferencias estadísticamente significativas ($p=0,63$). La supervivencia libre de recidiva a los 5 años fue del 63,97 % en pacientes con OSSN localizadas en limbo temporal/nasal, y del 61,54 % en los casos hallados en otras localizaciones (Tab. A.9).

Las OSSN que afectaban exclusivamente el *tejido* conjuntival con respecto a las que afectaban simultáneamente la conjuntiva y a la córnea o bien exclusivamente a la córnea, presentan inicialmente probabilidades de recidiva algo mayores (Fig. 9.5) pero a medida que trascurrían los meses de seguimiento estas probabilidades se invierten, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p=0,63$; $HR=1,26$; $IC=0,48-3,29$) como se observa en la Tabla A.10. Otra variable que se analizó en nuestro estudio fue el *tratamiento* realizado

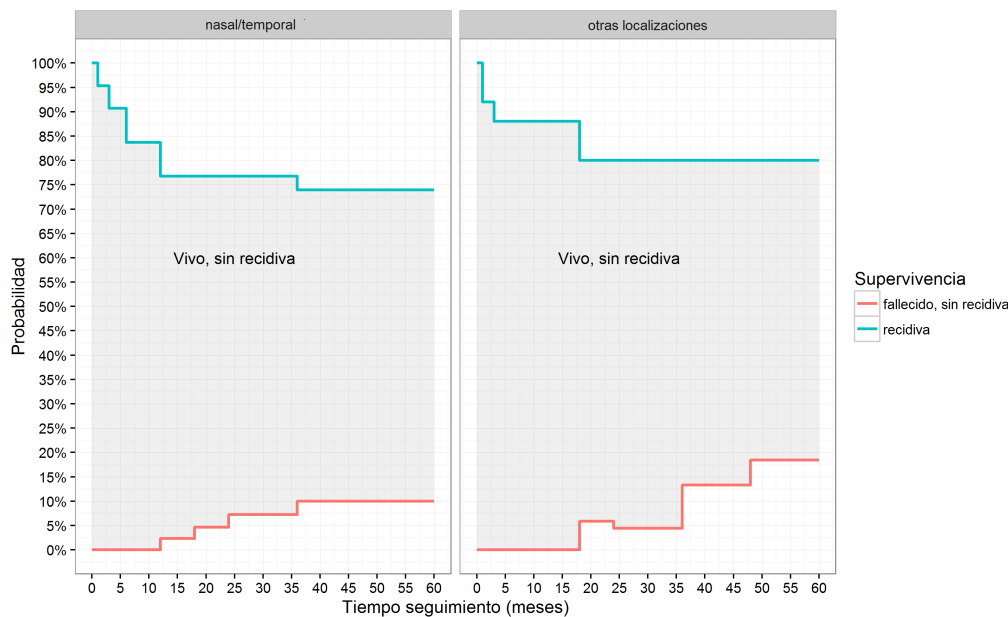


Figura 9.4: Probabilidad de recidiva de las OSSN según su localización

inicialmente, englobándolo en tres grupos: quimioterapia/inmunoterapia tópicas, cirugía escisional con crioterapia, cirugía escisional con crioterapia y fármacos coadyuvantes. Las probabilidades de recidiva en función del tratamiento realizado inicialmente se recogen en la Tabla A.11. Los resultados que se obtuvieron a lo largo del seguimiento se justifican por las características de los pacientes a los que se les realizó tratamiento quirúrgico, según se recogió en la Tabla 7.1. Se trata de pacientes con OSSN de mayor tamaño, de aspecto gelatinoso/papilomatoso y con afectación córneo-conjuntival o corneal, que en principio son lesiones con un peor pronóstico.

A la hora de analizar la recurrencia respecto al valor de positividad de los marcadores estudiados, Ki-67 y p21, se contaba con 42 muestras. En el caso de Ki-67 donde se había podido establecer un valor de corte de 10 %, se pudo observar que en los casos con un índice Ki-67 superior a 10 %, 30/42 (71,42 %), presentaron recidiva 12/30 (40 %), con una mediana de tiempo de 6 meses. En aquellos casos en los que Ki-67 fue inferior a 10 %, 12/42 (28,57 %), solo presentaron recidiva 3/12 (25 %), con una mediana de tiempo de 3 meses.

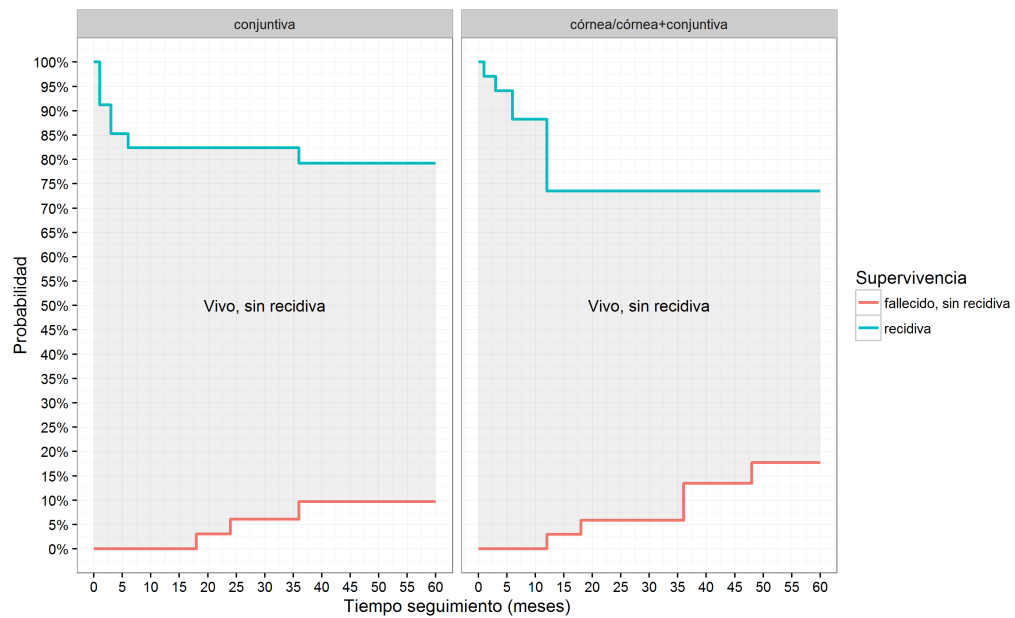


Figura 9.5: Probabilidad de recidiva de las OSSN según el tejido afectado

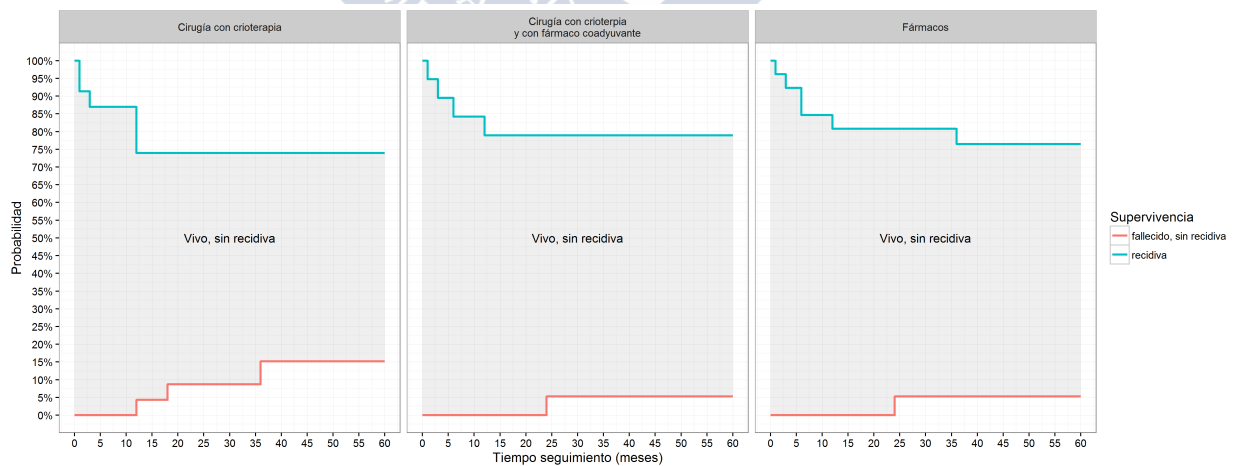


Figura 9.6: Probabilidad de recidiva de las OSSN según el tratamiento inicial recibido



10

Discusión

En la transformación neoplásica de un tejido no existe una regla absoluta. Las neoplasias en la misma localización, con el mismo patrón histopatológico y la misma patogenia, experimentan comportamientos completamente diferentes. En este sentido, interesa cada vez más aumentar la caracterización clínica, histológica e inmunohistoquímica, mediante marcadores protéicos que puedan ser fácilmente utilizados en la rutina diagnóstica, para identificar parámetros indicadores de agresividad que permitan el ajuste de tratamientos más adecuados en cada caso.

10.1

Parámetros clínico-histopatológicos

El grupo de pacientes estudiado presentó una media de edad (70 años) más acorde con el perfil demográfico de los países desarrollados que con el de los países en vías de desarrollo, donde además de presentarse estos tumores en edades más tempranas (tercera década de la vida), presentan un predominio en la raza negra y en pacientes inmunocomprometidos (Waddell et al., 1996; Kaimbo et al., 1998; Mahomed y Chetty 2002; Newton et al., 2002; Porges y Groisman 2003; Pola et al., 2003).

La mayor prevalencia de las OSSN en el sexo masculino referida en la literatura, sobre todo también en los países desarrollados, (Sun et al., 1997; Tabin et al., 1997; Tunc et al., 1999; McKelvie et al., 2002; Rudkin et al., 2011), se observó igualmente en nuestro estudio con una ratio hombre/mujer de 2,1. Este dato podría reflejar la influencia, durante décadas, de factores de riesgo más evidentes en varones.

Otro factor epidemiológico importante es la exposición solar. Galicia está comprendida entre 41° y 43° de latitud (norte), por lo que la exposición solar es mucho menor que en latitudes sur y regiones cercanas al ecuador, dato que como se ha visto, es un factor importante a la hora de la aparición de las OSSN (Lee y Hirst 1992; Newton et al., 1996; McClellan et al., 2013) y explica que aparezcan en edades más tardías. Tradicionalmente la economía gallega ha dependido de la agricultura y la pesca, trabajos ambos que se realizan al aire libre con una exposición solar acumulativa. Aunque actualmente la base económica no se sustente exactamente en este sector, sí que en nuestro caso casi un 70 % de los pacientes trabajaban expuestos a radiación solar (Napora et al., 1990; Newton et al., 1996; Sun et al., 1997; Tulvatana et al., 2003).

El hábito tabáquico que en la mayoría de las historias no venía reflejado, fue uno de los datos que se obtuvo telefónicamente, no registrando el detalle de número de cigarrillos/día, ni tiempo de exposición, limitándose la variable a fumador (aunque fuera ex-fumador) y no fumador. Las OSSN fueron más frecuentes en fumadores y sobre todo varones, lo que concuerda con lo descrito en la literatura (Napora et al., 1990; McClellan et al., 2013). En un estudio realizado por Gichuhi et al., (2015b), no se encontraron diferencias significativas entre fumadores y no fumadores; sin embargo, entre los fumadores, la media de cigarrillos consumidos al día, fue mayor en aquéllos con OSSN; en Uganda, dos estudios de casos y controles no mostraron diferencias significativas en el riesgo de desarrollar estos tumores entre fumadores y no fumadores (Waddell et al., 2010; Ateenyi-Agaba et al., 2010); en Nigeria, en una serie de 37 casos solo 2 pacientes (5,4 %) eran fumadores (Ogun et al., 2009), mientras que en una serie en Australia, 5 de 11 casos (45 %) eran fumadores (McKelvie et al., 2002), no pudiéndose describir claramente como un factor de riesgo por sí mismo. En el carcinoma cervical uterino, aunque también con cierta controversia, se ha descrito una posible asociación con el tabaco (Jabłonowska-Fudzińska et al., 2015), observándose más mutaciones a nivel del flujo cervical de las pacientes fumadoras. En el caso de las OSSN, el tabaco podría tener, de igual manera, un efecto mutagénico a nivel del epitelio conjuntival.

En cuanto a la infección por VIH como factor de riesgo para desarrollar OSSN, solo fue positivo en uno de los pacientes, por lo que no se pudo estudiar su posible papel en nuestra muestra. Ciertamente es que, en Galicia, la tasa anual de infección por

10.1. Parámetros clínico-histopatológicos

VIH es de 74 casos/millón habitantes/año, considerablemente inferior a la media española (101 casos/millón habitantes/año) y muy por debajo de la registrada en otras regiones (África, Nueva Zelanda, Florida), donde se llevan a cabo los mayores estudios de OSSN (Ateenyi-Agaba 1995; Waddell et al., 1996; Karp et al., 1996; Kaimbo et al., 1998; Poole 1999; Newton et al., 2002; Kabra y Khaitan 2015). Estos estudios también concluyeron que las OSSN de los individuos infectados por VIH presentaban un potencial de malignidad mayor que las de los individuos no infectados por el virus y aparecían en edades más tempranas sin predominancia de sexo (Makupa et al., 2012).

El posible papel del VPH en la etiología de las OSSN partía de su importancia en la patogenia de carcinomas del tracto genital y orofaríngeo, pero posteriormente se vio en algunos trabajos que el papiloma que aparecía en las OSSN era de tipo cutáneo y no mucoso (Ateenyi-Agaba et al., 2004; Tornesello et al., 2006; Koning et al., 2008; Ateenyi-Agaba et al., 2010). Kao et al., (2012) hallaron relación en los casos de papilomas conjuntivales.

Al inicio de nuestro trabajo, se planteó valorar el papel del VPH en el desarrollo y la evolución de las OSSN. Sin embargo, la falta de consenso (McDonnell et al., 1987; Eng et al., 2002; Gichuhi et al., 2013) sobre la influencia del VPH en la etiología de estas neoplasias y sobre el método de detección idóneo, unida al elevado coste de esta determinación, hicieron que no fuera factible el análisis del VPH en las muestras analizadas. Recientemente, parece ser que la mayor positividad de VPH se encuentra en pacientes infectados por VIH (Ateenyi-Agaba et al., 2010; Lissouba et al., 2013; Kabra y Khaitan 2015). Se deberían promover medidas de prevención primaria en estos ámbitos (exposición solar, hábito tabáquico, infección por VIH y VPH) para actuar sobre los factores de riesgo evitables que favorecen la aparición de neoplasias en la SO (Gichuhi et al., 2016).

La población con OSSN que acudió a nuestras consultas de oftalmología presentaba fundamentalmente una lesión a nivel de la SO que no cedía con tratamientos prescritos por sus médicos de atención primaria, siendo el porcentaje menor a lo encontrado por Erie et al., (1986) o Gichuhi et al., (2015b), (77 %), pero similar a lo descrito en una larga serie de Queensland (Lee y Hirst 1997), (28 %). En la literatura se han descrito como síntomas iniciales más frecuentes en

los pacientes con OSSN, la irritación conjuntival, el lagrimeo o el dolor ocular (Erie et al., 1986; Lee y Hirst 1997), siendo la disminución de agudeza visual el motivo menos frecuente de consulta. Esto no ocurre en los países en los que el acceso al sistema sanitario está restringido, por ejemplo Sudán, donde las lesiones que llegan al oftalmólogo se encuentran en estadios mucho más avanzados (Malik y El Sheikh 1979).

La mayoría de nuestros pacientes fueron diagnosticados con lesiones de tamaño entre 1–3 horas, siendo en más del 50 % de los casos displasias, pero hay que tener en cuenta que es un centro con una unidad especializada de Superficie Ocular donde se centralizan la mayor parte de las lesiones que afectan a la SO. Esto podría no ser superponible en centros más pequeños donde la oftalmología no esté tan subespecializada. Por tanto, la accesibilidad relativamente rápida a centros especializados, va a ser otro de los factores que determine el control de estas lesiones en estadios precoces. Es importante tener en cuenta el posible diagnóstico diferencial, aunque a veces no es sencillo, para sospechar una neoplasia ante cuadros de este tipo ya que el tamaño, como se ha visto, va a influir en la evolución, tanto por su mayor potencial de malignidad como por los problemas a la hora del tratamiento. Por lo tanto, cuanto antes se realice la detección, mejor será el pronóstico ocular.

Al igual que en otras series (Ash y Wilder 1942; McKelvie et al., 2002; Shields y Shields 2004; Kao et al., 2012), la localización de las OSSN a nivel limbo nasal–temporal (zona con mayor potencial de recambio celular (Tseng 1989) y más expuesta a la radiación UV-B) fue un hecho evidenciado en nuestro estudio (63,2 %) y concuerda con la literatura que desde 1942 ha puesto de manifiesto que es la zona donde con mayor frecuencia se asientan estas lesiones. Sin embargo, lo que resulta verdaderamente importante es que, de las OSSN diagnosticadas en otras localizaciones, el 84 % fueron displasias severas/carcinomas (Erie et al., 1986). Por este motivo, lesiones sospechosas en localizaciones no habituales (zonas superior/inferior o a nivel conjuntiva tarsal) deberían alertarnos de su posible potencial maligno. En estos casos se ha postulado, dado que son regiones que apenas tienen exposición a la luz solar, que deben existir otros factores responsables del desarrollo y de la mayor agresividad de las neoplasias en estas localizaciones (Cha et al., 1993; Kao et al., 2012). Para ello será necesario realizar estudios que

10.2. Parámetros inmunohistoquímicos

permitan analizar estos hallazgos. De igual manera, las lesiones localizadas en estas zonas no expuestas a la visualización por parte de los pacientes, podrían retrasar su diagnóstico, realizándose en estadios mucho más avanzados con las implicaciones que conlleva respecto al tratamiento y el pronóstico de la enfermedad.

En relación al aspecto clínico de las OSSN, se apreció en nuestro estudio que las de tipo gelatinoso mayoritariamente eran lesiones de alto grado, lo que parece intuitivo, ya que la medida vertical (altura) de las lesiones se corresponde con un mayor incremento mitótico, y por tanto, con una mayor agresividad tumoral. De igual manera, las lesiones que ocupan una mayor extensión en la SO, se asocian significativamente con un mayor grado de malignidad. El aspecto papilomatoso también es frecuente en las lesiones de alto grado, pero quizá en ellas, el papel del VPH pueda estar involucrado (Pizzarello y Jakobiec 1978; Erie et al., 1986; Kao et al., 2012).

Por tanto, la localización fuera del limbo nasal-temporal interpalpebral de las OSSN, al igual que el tamaño de las mismas al diagnóstico >4 horas, o su aspecto gelatinoso o papilomatoso, se relacionó de manera significativa en nuestra serie con un grado histopatológico más elevado (displasias severas/carcinomas). Las características que se acaban de exponer, deberían orientarnos en la exploración oftalmológica, hacia lesiones córneo-conjuntivales altamente sospechosas de malignidad.

10.2 Parámetros inmunohistoquímicos

El índice de proliferación celular siempre ha tenido un papel importante en la clasificación de los tumores y por lo tanto, forma parte de los factores pronósticos y predictivos de distintas neoplasias. El procedimiento de contar directamente las mitosis en las secciones tisulares de las neoplasias, como indicador de la actividad proliferativa de las mismas, es una técnica antigua y muy instaurada en el armamentarium de la Anatomía Patológica. Así por ejemplo, no puede faltar en los informes histopatológicos de neoplasias tan frecuentes como el carcinoma de mama, como parte del sistema de grados histológicos conocido con el nombre de

Bloom–Richardson (Bloom y Richardson 1957). Sin embargo, a pesar de su teórica sencillez, no es un procedimiento exento de puntos débiles y dificultades (Thunnissen et al., 2001). Solo si se aplican normas muy estrictas en la cuantificación se pueden obtener valores relativamente homogéneos.

Un abordaje alternativo de esta cuestión es la utilización de marcadores inmunohistoquímicos que informan sobre la actividad proliferativa, por expresarse exclusivamente en las células en mitosis o en las fases del ciclo celular que la preceden. Estos marcadores tumorales cada día toman un papel más importante en el pronóstico y el tratamiento del cáncer.

El Ki-67 es un anticuerpo monoclonal que identifica un antígeno nuclear que se encuentra solo en las células en las fases proliferativas del ciclo celular y ha demostrado tener un papel importante en la regulación del ciclo celular, estando ausente en las células en reposo o sin replicación, como ya se expuso anteriormente. La cuantificación de la expresión de Ki-67 es una forma de medir el índice de proliferación celular de los tumores, utilizando técnicas de IHQ. En algunos tumores, como los carcinomas escamosos de la cavidad oral donde se han realizado numerosos estudios, el elevado índice de Ki-67 se ha asociado a un grado histológico poco diferenciado, a un aumento en el número de recidivas locales y metástasis ganglionares, pero no se puede considerar por sí solo como un marcador independiente de mal pronóstico. En el caso del cáncer de mama, el Ki-67 se puede considerar, un factor predictor de supervivencia (Pérez-López et al., 2016). En el caso de los meningiomas, muchos laboratorios de forma rutinaria miden este índice de proliferación tumoral como factor predictivo de la evolución clínica (Telugu et al., 2016). El problema de utilizar el Ki-67 como factor pronóstico o predictivo en la mayoría de neoplasias, radica en la falta de consenso sobre qué niveles de este marcador son considerados de peor pronóstico.

En el caso de las OSSN hay pocos trabajos en los que se analiza el índice de proliferación celular cuantificando el Ki-67 (Mahomed y Chetty 2002; McKelvie et al., 2002; Guthoff y Marx 2009; Nagata et al., 2014; Kenawy et al., 2015). Por este motivo, se considera interesante aportar nuestros resultados a la hora de intentar establecer un punto de corte para la caracterización pronóstica y terapéutica de estas lesiones.

10.2. Parámetros inmunohistoquímicos

En nuestro estudio, si se toma como punto de corte el valor de Ki-67 con mayor sensibilidad y especificidad, que como ya se comentó en el apartado de resultados era de 10 (positividad 10 %), se observa que existe una clara tendencia a presentar un valor promedio de Ki-67 mucho mayor, más del doble, en aquellas lesiones con un mayor grado histológico, es decir, en displasias severas/carcinomas. Este hecho concuerda con lo publicado respecto a otras neoplasias escamosas, en las que se han realizado numerosos estudios, ya que su incidencia y su morbi—mortalidad son mucho mayores, como es el caso de las neoplasias de cabeza y cuello (Myoung et al., 2006; Rafferty et al., 2008) y tumores de mama (Pérez-López et al., 2016) entre otros. La localización neoplásica en la región límbica interpalpebral, más expuesta a la radiación solar y con mayor potencial de proliferación celular, también ha contado en nuestro estudio con los valores más elevados de Ki-67. Por tanto, un índice elevado de Ki-67 por encima de nuestro valor de referencia, podría indicar un comportamiento más agresivo de estas neoplasias.

En la última década, el progreso de la tecnología de la información y de la comunicación, ha ofertado nuevas posibilidades para incrementar el nivel de objetividad y eficiencia en los exámenes histopatológicos mediante análisis de imagen automatizado. En esta línea, Asoklis et al., (2014) aplicó por primera vez el algoritmo Aperio nuclear V9, para analizar los cambios histopatológicos a las OSSN. Este método de cuantificación de la expresión de marcadores inmunohistoquímicos como el Ki-67 ya es utilizado de forma rutinaria en otras neoplasias como el linfoma de células B (Chabot-Richards et al., 2011). El porcentaje de Ki-67 positivo, obtenido en el estudio de Asoklis et al., (2014) aplicando el algoritmo Aperio nuclear V9 (21,5 %–43,5 %, media: 33,6 %), fue comparable con el de Jung et al., (2006).

McKelvie et al., (2002) publicaron valores de Ki-67 menores (2 %–29 %, mediana: 10 %) utilizando en su estudio resultados obtenidos mediante análisis visual de las muestras. A pesar de que ciertos estudios (McKelvie et al., 2002; Ohara et al., 2004), al igual que el nuestro, revelaran Ki-67 como marcador independiente del pronóstico de las OSSN, resulta arriesgado hablar de una asociación entre positividad de Ki-67 y evolución tumoral, ya que son estudios todos ellos, de pequeño tamaño muestral. En estudios realizados en ojos de caballos con OSSN, se observó una relación inversa entre el grado de diferenciación de carcinomas de

células escamosas y el índice de positividad Ki-67 (carcinomas pobremente diferenciados: rango 19,3 %-34,6 % -media = 27,7 %-; carcinomas bien diferenciados: rango 14,2 %-21,6 % -media = 19,3 %), (Carvalho et al., 2005). Estos datos son similares a los publicados por Makino et al., (1998) en ojos humanos (carcinomas pobremente diferenciados: media = 31,9 %-; carcinomas bien diferenciados: media = 20 %).

Otro marcador inmunohistoquímico que se analizó fue el p21. Se realizó una estimación del valor promedio en nuestra muestra, sin embargo, en este caso hay que tener en cuenta que el p21 tiene una doble actividad, p53 dependiente y p53 independiente, hecho que podría explicar el hallazgo de valores promedios de p21 en algunas ocasiones bajos (3) y en otras elevados (83), tanto en displasias como en neoplasias de alta actividad proliferativa. Este hecho, unido al tamaño muestral limitado por la incidencia no demasiado elevada de estas lesiones, podría condicionar en cierta medida las conclusiones en este ámbito. No se encontró un punto de corte, con especificidad y sensibilidad suficientes, que permitiera orientar en la práctica clínica hacia un índice proliferativo de la lesión bajo o elevado.

Las ventajas de la IHQ son claras: estos marcadores pueden emplearse en tejidos archivados y su valoración puede realizarse preservando la histología de los mismos. En el caso de las OSSN realizar una cuidadosa valoración de las características morfológicas es muy importante, pero sería de gran utilidad la determinación del índice de proliferación celular que proporcionara información valiosa para determinar el pronóstico de la lesión y así poder diseñar un abordaje terapéutico y preventivo eficaz.

10.3 Supervivencia libre de recidiva

La recurrencia de las OSSN se ha evidenciado en la literatura desde las primeras publicaciones. Yang y Foster (1997) y Karp et al., (2010) determinaron tasas de recurrencia a los 5 años de seguimiento entre el 7 % y el 22 % y entre el 17 % y el 41 % respectivamente, datos similares a los obtenidos en otros estudios posteriores. Galor et al., (2012) describieron recidivas al año de tratamiento en torno al 10 %, siendo este riesgo del 21 %, al cabo de 5 años. El tiempo medio de recurrencia fue de 2,5 años tras el tratamiento, y al igual que en estudios previos los márgenes

10.3. Supervivencia libre de recidiva

positivos, la localización a nivel de la conjuntiva palpebral y el mayor grado histopatológico fueron considerados factores de riesgo de recidiva. Chauhan et al., (2014) publicaron posteriormente recidivas en el 17 % de sus pacientes (48), siendo los tumores de mayor tamaño y de mayor grado histopatológico los que presentaron, de igual manera, tasas más elevadas de recidiva.

En esta serie de 68 OSSN el índice de recurrencia fue del 23,8 % a los cinco años de seguimiento, sin embargo, se debe tener en cuenta que 3 de los pacientes que recidivaron tras el tratamiento quirúrgico y a los que se trató de la recidiva en nuestro centro, habían sido operados en otros hospitales en los que no se les había realizado crioterapia concomitante en el momento de la cirugía. Si se considera este dato y se excluyen estos pacientes de nuestra serie, la tasa de recidiva local descendería al 10,0 %. En el grupo del tratamiento quirúrgico con fármacos coadyuvantes, 2 de los pacientes abandonaron el tratamiento y fueron revisados al cabo de varios años en nuestras consultas con recidivas tumorales. Si se excluyen de este grupo, la tasa de recurrencia descendería al 11,7 %.

En los estudios retrospectivos que miden recurrencias tumorales, la variación en el período de seguimiento de los distintos pacientes, es un factor que debe tenerse en cuenta, ya que pueden aparecer a lo largo de los años, y no necesariamente en el primer o primeros años de seguimiento, pudiendo ser que los pacientes del grupo no recurrencia la presentaran años más tarde. En este sentido sería interesante conocer las características clínico-histopatológicas-inmunohistoquímicas de las OSSN que no presentan recurrencias respecto a las que sí las presentan.

En nuestra serie, las recurrencias tras el tratamiento aparecieron en la mayoría de los casos, después del primer año de seguimiento, al igual que en otros estudios previos (Kim et al., 2013), hecho que obliga al seguimiento de estos pacientes durante períodos de tiempo más prolongados. Aunque el diagnóstico histopatológico tras la escisión de la lesión permite diferenciar entre neoplasias benignas y malignas, los hallazgos clínicos son importantes a la hora de tomar una decisión terapéutica, bien cirugías más agresivas o manejo farmacológico. Como ya se ha visto anteriormente, algunos estudios han identificado ciertas características clínicas de las OSSN con mayor potencial de malignidad, como mayor tamaño de la lesión, aspecto papilomatoso, y afectación córneo-conjuntival (Pizzarello y Jakobiec 1978; Erie et al., 1986; McKelvie et al., 2002; Kao et al., 2012). La

tinción Rosa de Bengala positiva de forma punteada, la invasión estromal profunda y la presencia de vasos nutricios también se han descrito como signos indicadores de mayor potencial maligno (Wilson 1976; Erie et al., 1986).

Las ventajas de disponer del diagnóstico histopatológico son poder conocer la naturaleza, la severidad y el grado de diferenciación de las lesiones, llegando así al diagnóstico definitivo de las mismas. En nuestra unidad de Superficie Ocular, dada la experiencia clínica y los años de seguimiento, en algunos casos que reunían criterios clínicos de ausencia de agresividad tumoral no se realizó biopsia, tratándose de forma satisfactoria con terapias farmacológicas, sin necesidad de realizar maniobras quirúrgicas sobre la SO. Este dato es importante, ya que aunque estas lesiones no han sido incluidas en nuestro trabajo, ya que se partía de la base de datos de Anatomía Patológica, podrían modificar el porcentaje de recurrencias de las OSSN en nuestro medio, disminuyéndolo en cierta medida ya que la evolución de estas lesiones ha sido satisfactoria en todos los casos.

Aunque recientemente algunos estudios valoran la importancia de realizar tratamiento farmacológico tópico con el fin de evitar cirugías que puedan dañar la SO, el conocimiento de la naturaleza, la severidad y el grado de la lesión es fundamental, sobretudo en aquellos casos en los que sean más probables las recurrencias, como en uno de nuestros pacientes que apareció a los 5 años de seguimiento. Es por tanto necesario conocer los marcadores pronósticos, para poder realizar un seguimiento más controlado y un tratamiento precoz de las posibles recurrencias.

La preferencia de tratamientos en las OSSN ha ido cambiando en los últimos años, coincidiendo con un aumento en la literatura del uso de terapias tópicas tanto en monoterapia como en terapia coadyuvante. Otro de los cambios que también se ha objetivado es la preferencia por el tipo de agente tópico utilizado, quimioterapia o inmunoterapia. Sin embargo, hoy en día, a pesar de la gran cantidad de publicaciones al respecto, no existe consenso ni protocolos aprobados para el tratamiento de las OSSN. Serían necesarios estudios comparativos coste-efectivos de cada opción terapéutica (Siedlecki et al., 2016), teniendo en consideración el coste directo de cada tratamiento, la eficacia, las complicaciones y el porcentaje de recurrencia de cada una de ellas (Moon et al., 2016). Sin estos datos obtenidos

10.3. Supervivencia libre de recidiva

de manera prospectiva, el amplio abanico de prácticas terapéuticas probablemente se siga manteniendo, dificultando la valoración de la efectividad de las mismas.

Una de las limitaciones de este trabajo a la hora de analizar las recurrencias es que no se contaba en la gran mayoría de los casos con la evaluación histopatológica de los márgenes tumorales, siendo éste uno de los factores a tener en cuenta a la hora del tratamiento y del seguimiento posterior. Las características de estas lesiones (pequeño tamaño, friables, dificultad escisión ...) hacen que su análisis histopatológico posterior no sea tan sencillo, a pesar de que en la literatura existen estudios que analizan la afectación de los márgenes tumorales de estas lesiones. Algunos estudios reportaron recurrencias de hasta el 56 % cuando los márgenes de la lesión eran positivos y del 33 % en aquellos casos en los que los márgenes eran negativos (Erie et al., 1986; Tabin et al., 1997; Tunc et al., 1999). Posteriormente se han desarrollado alternativas y terapias complementarias a la escisión simple, que han repercutido positivamente en el descenso de estas recurrencias tumorales. En nuestro caso, cabría destacar que en todas las OSSN en las que se realizó escisión simple, siempre se aplicó crioterapia, por lo que en cierta medida, se podría "obviar" el tema de la afectación de los márgenes tumorales.

El hecho de que las recurrencias aparecieran con mayor frecuencia en los tumores de mayor tamaño ya era evidente en los primeros estudios (McKelvie et al., 2002). Por lo tanto, en estos casos se asociaría posteriormente terapia coadyuvante tópica (Yousef y Finger 2012; Galor et al., 2012). En nuestras OSSN tratadas con tratamiento quirúrgico y terapia coadyuvante el riesgo de recidiva elevado, como ya se ha comentado antes, se relaciona con las características clínico–histopatológicas que ya muestran un peor pronóstico inicial.

Para terminar, la valoración individualizada de los pacientes y de las propias OSSN a nivel clínico–histopatológico–inmunohistoquímico es un reto a alcanzar en futuras investigaciones. En esta línea, parece necesario diseñar nuevos estudios con el fin de establecer criterios comunes de actuación y tratamientos que contribuyan al descenso de la morbilidad y de las recurrencias de las OSSN. Los resultados de este trabajo abren nuevos interrogantes en el ámbito inmunohistoquímico que requieren seguir investigando en esta línea, ya que la ausencia de evidencia, no es evidencia de ausencia.



Este estudio constituye una primera aportación sobre la relación de las características clínicas, histopatológicas e inmunohistoquímicas de las OSSN en Galicia. De acuerdo con el estudio realizado y los resultados obtenidos podemos concluir que:

- En la población estudiada se observó una mayor prevalencia de OSSN en hombres fumadores y en personas con ocupaciones al aire libre.
- El diagnóstico histopatológico de OSSN más frecuente fue la displasia.
- Algunos factores clínicos se asocian con OSSN de alto grado, lo que podría suponer una ayuda al oftalmólogo para poder anticiparse al grado histopatológico de las lesiones sospechosas. Las neoplasias de mayor tamaño, de aspecto gelatinoso/papilomatoso y las que no se localizan a nivel interpalpebral, son con mayor frecuencia displasias severas o carcinomas.
- La IHQ es una herramienta complementaria en el estudio de las OSSN. El Ki-67 parece ser un buen marcador del índice de proliferación celular de estas neoplasias, considerando como posible punto de corte la positividad nuclear del 10 %.
- Existe una correlación entre el grado histopatológico de displasia severa o carcinoma y un índice elevado de positividad inmunohistoquímica para Ki-67, al igual que la localización no interpalpebral o el aspecto papilomatoso/gelatinoso.

- Los valores de p21 fueron más elevados en las OSSN que afectaban simultáneamente la córnea y la conjuntiva, no encontrando diferencias en función del tamaño, aspecto o grado histopatológico.
- Las recurrencias de las OSSN aparecen a partir del primer año de seguimiento.
- La supervivencia libre de recidiva aumenta en los casos en los que se asocia a la cirugía tratamiento coadyuvante, crioterapia y/o quimioterapia/inmunoterapia tópica.







Bibliografía

- Acero-Peña A., Domingo-Gordo B., Arrevola-Velasco L., Gómez-García J., Martínez-Montero J. (2000). "Linfoma de la zona marginal de la conjuntiva: características clínico patológicas". *Arch Soc Esp Oftalmol*, 75:477-480.
- Adler E., Turner J., Stone D. (2013). "Ocular surface squamous neoplasia: A survey of changes in the standard of care from 2003 to 2012". *Cornea*, 32:1-4.
- Ali M., Pujari A., Dave T., Kaliki S., Naik M. (2016). "Clinicopathological profile of orbital exenteration: 14 years of experience from a tertiary eye care center in South India". *Int Ophthalmol*, 36:253-258.
- Alimonti E., Gottsch J. (2003). "Immune defense at the ocular surface". *Eye*, 17:949-956.
- Ash J., Wilder H. (1942). "Epithelial tumors of the limbus". *Am J Ophthalmol*, 25:926-932.
- Asoklis R., Kadziauskiene A., Paulaviciene R., Petroska D., Laurinavicius A. (2014). "Quantitative histopathological assessment of ocular surface squamous neoplasia using digital image analysis". *Oncology Letters*, 8:1482-1486.
- Ateenyi-Agaba C. (1995). "Conjunctival squamous-cell carcinoma associated with HIV infection in Kampala, Uganda". *Lancet*, 345:695-696.
- Ateenyi-Agaba C., Franceschi S., Wabwire-Mangen F., Arslan A., Othieno E., Binta-Kahwa J., Doorn L., Kleter B., Quint W., Weiderpass E. (2010). "Human papillomavirus infection and squamous cell carcinoma of the conjunctiva". *Br J Ophthalmol*, 102:262-267.
- Ateenyi-Agaba C., Weiderpass E., Smet A., Dong W., Dai M., Kahwa B., Wabinga H., Katongole-Mbidde E., Franceschi S., Tommasino M. (2004). "Epidermodysplasia verruciformis human papillomavirus types and carcinoma of the conjunctiva: a pilot study". *Br J Ophthalmol*, 90:1777-1779.

- Baeten J., McClelland R., Richardson B., Bankson D., Lavreys L., Wener M., Overbaugh J., Mandaliya K., Ndinya-Achola J., Bwayo J., Kreiss J. (2002). "Vitamin A deficiency and the acute phase response among HIV-1-infected and -uninfected women in Kenya". *J AIDS*, 31:243-249.
- Ballalai P., Erwenne C., Martins M., Lowen M., Barros J. (2009). "Long-term results of topical mitomycin C 0.02 % for primary and recurrent conjunctival-corneal intraepithelial neoplasia". *Ophthalm Plast Reconstr Surg*, 25:296-299.
- Basti S., Maesai M. (2003). "Ocular surface squamous neoplasia. A review". *Cornea*, 22:687-704.
- Becerra E., Blanco G., Saornil M., del C Méndez M., Bianciotto C. (2005). "Hughes technique, amniotic membrane allograft, and topical chemotherapy in conjunctival melanoma with eyelid involvement". *Ophthalm Plast Reconstr Surg*, 21:238-240.
- Bettelheim F., Plessy B. (1975). "The hydration of proteoglycans of bovine cornea". *Biochim Biophys Acta*, 383:203-214.
- Billiau A. (1981). "The clinical value of interferons as antitumor agents". *Eur J Cancer Clin Oncol*, 17:949-967.
- Blasi M., Gherlinzoni F., Calvisi G., Sasso P., Tani M., Cellini M., Balestrazzi E. (2001). "Local chemotherapy with interferon-alfa for conjunctival mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma: a preliminary report". *Ophthalmology*, 108:559-562.
- Bloom H., Richardson W. (1957). "Histological grading and prognosis in breast cancer. A study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years". *Br J Cancer*, 11:359-367.
- Boehm M., Huang A. (2004). "Treatment of recurrent corneal and conjunctival intraepithelial neoplasia with topical interferon alfa 2b". *Ophthalmology*, 111:1755-1761.
- Breuer-McHam J., Simpson E., Dougherty I., Bonkobara M., Ariizumi K., Lewis D., Dawson D., Duvic M., Cruz P. (2001). "Activation of HIV in human skin by ultraviolet B radiation and its inhibition by NFkappaB blocking agents". *Photochem Photobiol Sci*, 74:805-810.
- Bron A. (2001). "The architecture of the corneal stroma". *Br J Ophthalmol*, 85:379-381.

- Carreira H., Coutinho F., Carrilho C., Lunet N. (2013). "HIV and HPV infections and ocular surface squamous neoplasia: systematic review and meta-analysis". *Br J Cancer*, 109:1981-1988.
- Carvalho T., Vala H., Pinto C., Pinho M., Peleteiro M. (2005). "Immunohistochemical studies of epithelial cell proliferation and p53 mutation in bovine ocular squamous cell carcinoma". *Vet Pathol*, 42:66-73.
- Cervantes G., Rodríguez A., Leal A. (2002). "Squamous cell carcinoma of the conjunctiva: clinicopathological features in 287 cases". *Can J Ophthalmol*, 37:14-19.
- Cha S., Shields J., Shields C., Wang M. (1993). "Squamous cell carcinoma of the conjunctiva". *Int Ophthalmol Clin*, 33:19-24.
- Chabot-Richards D., Martin D., Myers O., Czuchlewski D., Hunt K. (2011). "Quantitative image analysis in the assessment of diffuse large B-cell lymphoma". *Modern Pathol*, 24:1598-1605.
- Chauhan S., Sen S., Sharma A., Tandon R. and Kashyap S., Pushker N., Vanathi M., Sharma N. (2014). "American joint committee on cancer staging and clinicopathological high-risk predictors of ocular surface squamous neoplasia". *Arch Pathol Lab Med*, 138:1488-1494.
- Chebbi A., Bouguila H., Boukari M., Lajmi H., Bouzain M., Abess I., Malek I., Mrad K., Zeghal I., Nacef L. (2015). "Le pronostic des tumeurs malignes primitives de la conjonctive". *J Fr Ophthalmol*, 38:477-485.
- Cloyd M., Chen J., Adegboyega P., Wang L. (2001). "How does VIH cause depletion of CD4 lymphocytes? A mechanism involving virus signaling through its cellcell receptors". *Curr Mol Med*, 1:545-550.
- Clydesdale G., Dandie G., Moller H. (2001). "Ultraviolet light induced injury: immunological and inflammatory effects". *Immunol Cell Biol*, 79:547-568.
- Copeland R., Char D. (1990). "Limbal autograft Reconstruction after conjunctival squamous cell carcinoma". *Am J Ophthalmol*, 110:412-415.
- Crim N., Fornies-Paz M., Monti R., Esposito E., Maccio J., Urrets-Zavalía J. (2013). "In situ carcinoma of the conjunctiva: surgical excision associated with cryotherapy". *Clin Ophthalmol*, 7:1889-1893.
- Damani M., Shah A., Karp C., Orlin S. (2015). "Treatment of ocular surface squamous neoplasia with topical aloe vera drops". *Cornea*, 34:87-89.

- Damato B. (2000). *Tumors. Diagnosis and treatment*. Vol. III Edition. Butterworth-Heinemann.
- Damin D., Ziegelmann P., Damin A. (2013). "Human papillomavirus infection and colorectal cancer risk: a met". *Int J Colorectal Dis*, 15:420-428.
- Daniel C., Beaconsfield M., Rose G. (2003). "Pleomorphic lipoma of the orbita: a case series and review of literature". *Ophthalmology*, 110:101-105.
- Daniell M., Maini R., Tole D. (2002). "Use of mitomycin C in the treatment of corneal conjunctival intraepithelial neoplasia". *Clin Experiment Ophthalmol*, 30:94-98.
- Davis G. (1994). "Interferon treatment of chronic hepatitis C". *Am J Med*, 96:41-46.
- de Keizer R., de Wolff-Rouendaal D., van Delft J. (1986). "Topical application of 5-fluorouracil in premalignant lesions of cornea, conjunctiva and eyelid". *Doc Ophthalmol*, 64:31-42.
- Decatris M., Santhanam S., O'Byrne K. (2002). "Potential of interferon alpha in solid tumours". *BioDrugs*, 16:261-281.
- Demirci H., McCormick S., Finger P. (2000). "Topical mitomycin chemotherapy for conjunctival malignant melanoma and primary acquired melanosis with atypia: clinical experience with histopathologic observations". *Arch Ophthalmol*, 118:885-891.
- Di Girolamo N. (2012). "Association of human papilloma virus with pterygia and ocular-surface squamous neoplasia". *Eye*, 26:202-211.
- Dua H., Faraj L. A., Said D. G., Gray T., Lowe J. (2013). "Human corneal anatomy redefined. A novel Pre-Descemet's Layer (Dua's Layer)". *Ophthalmology*, 120:1778-1785.
- Duchrow M., Gerdes J., Schlüter C. (1994). "The proliferation-associated Ki-67 protein: definition in molecular terms". *Cell Prolif*, 27:235-242.
- Dudney B., Malecha M. (2004). "Limbal stem cell deficiency following topical mitomycin C treatment of conjunctival-corneal intraepithelial neoplasia". *Am J Ophthalmol*, 137:950-951.
- Eagle R., Penne R., Hneleski I. (1995). "Eyelid Involvement in multicentric reticulohistiocytosis". *Ophthalmology*, 102:426-430.

- El Deiry W., Harper J., Hill D., Jackman J., Mercer W., OConnor P., Pietsenpol J., Velculescu V., Wang Y., Wiman K., Mercer W., Kastan M., Kohn K., Elledge S., Kinzler K., Vogelstein B. (1994). "WAF1/CIP1 is induced in p53-mediated G1 arrest and apoptosis". *Cancer*, 54:1169-1174.
- Eng H., Lin T., Chen S., Wu S., Chen W. (2002). "Failure to detect human papillomavirus DNA in malignant epithelial neoplasms of conjunctiva by polymerase chain reaction". *Am J Clin Pathol*, 117:429-436.
- Erie J., Campbell R., Liesegang T. (1986). "Conjunctival and corneal Intraepithelial and invasive neoplasia". *Ophthalmology*, 93:176-183.
- Espana E., Prabhasawat P., Grueterich M., Solomon A., Tseng S. (2002). "Amniotic membrane transplantation for reconstruction after excision of large ocular surface neoplasias". *Br J Ophthalmol*, 86:640-645.
- Faramarzi A., Feizi S. (2013). "Subconjunctival bevacizumab injection for ocular surface squamous neoplasia". *Cornea*, 32:998-1001.
- Finger P., Chin J. (2012). "Refractory squamous cell carcinoma of the conjunctiva treated with subconjunctival ranibizumab (Lucentis): a two-year study". *Ophthal Plast Reconstr Surg*, 28:85-89.
- Folberg R., Jakobiec F., Bernardino V., Iwamoto T. (1989). "Benign conjunctival melanocytic lesions. Clinicopathologic features". *Ophthalmology*, 96:436-461.
- Font R., Croxatto O., Rao N. (2006). "Tumors of the eye and ocular adnexa". *American Registry of Pathology; Armed Forces Institute of Pathology*, 49:3-24.
- Frucht-Pery J., Rozenman Y. (1994). "Mitomycin C therapy for corneal intraepithelial neoplasia". *Am J Ophthalmol*, 117:164-168.
- Frucht-Pery J., Peer J. (1996). "Use of mitomycin C in the treatment of conjunctival primary acquired melanosis with atipia". *Arch Ophthalmol*, 114:1261-1264.
- Frucht-Pery J., Sugar J., Baum J. (1997). "Mitomycin C treatment for conjunctival-corneal intraepithelial neoplasia: a multicenter experience". *Ophthalmology*, 104:2085-2093.
- Galor A., Karp C., Chhabra S., Barnes S., Alfonso E. (2010). "Topical interferon alpha 2b eye-drops for treatment of ocular surface squamous neoplasia: a dose comparison study". *Br J Ophthalmol*, 94:551-554.

- Galor A., Karp C., Oellers P., Kao A., Abdelaziz A., Feuer W., Dubovy S. (2012). "Predictors of ocular surface squamous neoplasia recurrence after excisional surgery". *Ophthalmology*, 119:1974-1981.
- Gelender H., Forster R. (1980). "Papanicolaou cytology in the diagnosis and management of external ocular tumors". *Arch Ophthalmol*, 98:909-912.
- Gerdes J., Dallenbach F., Lennert K., Lemke H., Stein H. (1984). "Growth fractions in malignant non-Hodgkin's lymphomas (NHL) as determined in situ with the monoclonal antibody Ki-67". *Hematol Oncol*, 2:365-371.
- Gerdes J., Li A., Schlueter C., Duchrow M., Wohlenberg C., Gerlach C., Stahmer I., Kloth S., Brandt E., Flad H. (1991). "Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67". *Am J Pathol*, 138:867-873.
- Gerdes J., Schwab U., Lemke H., Stein H. (1983). "Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation". *Int J Cancer*, 31:13-20.
- Giannoudis A., Herrington C. (2000). "Differential expression of p53 and p21 in low grade cervical squamous intraepithelial lesions infected with low, intermediate, and high risk human papillomaviruses". *Cancer*, 89:1300-1307.
- Gibbs N., Norval M. (2013). "Photoimmunosuppression: a brief overview". *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 29:57-64.
- Gichuhi S., Macharia E., Kabiru J., Zindamoyen A., Rono H., Ollando E., Wachira J., Munene R., Maina J., Onyuma T., Sagoo M., Weiss H., Burton M. (2016). "Topical fluorouracil after surgery for ocular surface squamous neoplasia in Kenya: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial". *Lancet*, 4:378-85.
- Gichuhi S., Macharia E., Kabiru J., Zindamoyen A., Rono H., Ollando E., Wanyonyi L., Wachira J., Munene R., Onyuma T., Jaoko W., Sagoo M., Weiss H., Burton M. (2015a). "Toluidine blue 0.05 % .Vital staining for the diagnosis of ocular surface squamous neoplasia in Kenya". *Arch Ophthalmol*, 133:1314-1321.
- Gichuhi S., Macharia E., Kabiru J., Zindamoyen A., Rono H., Ollando E., Wanyonyi L., Wachira J., Munene R., Onyuma T., Sagoo M., Weiss H., Burton

- M. (2015b). "Clinical presentation of ocular surface squamous neoplasia in Kenya". *Arch Ophthalmol*, 133:1305-1313.
- Gichuhi S., Sagoo M., Weiss H., Burton M. (2013). "Epidemiology of ocular surface squamous neoplasia in Africa". *Trop Med Int Health*, 18:1424-1443.
- Gray R. (1988). "A class of k-sample tests for comparing the cumulative incidence of a competing risk". *Ann Stat*, 16:1141-1154.
- Grulich A., Van Leeuwen M., Falster M., Vajdic C. (2007). "Incidence of cancer in people with HIV/AIDS compared with immunosuppressed transplant recipients: a meta-analysis". *Lancet*, 370:59-67.
- Gupta A., Muecke J. (2010). "Treatment of ocular surface squamous neoplasia with mitomycin C". *Br J Ophthalmol*, 94:555-558.
- Guthoff R., Marx A. (2009). "No evidence for a pathogenic role of human papillomavirus infection in ocular surface squamous neoplasia in Germany". *Curr Eye Res*, 34:666-671.
- Hahn W., Weinberg R. (2002). "Rules for making human tumors cells". *N Engl J Med*, 347:1593-1603.
- Hanada K., Nishikawa N., Miyokawa N., Yoshida A. (2017). "Long-term outcome of amniotic membrane transplantation combined with mitomycin C for conjunctival reconstruction after ocular surface squamous neoplasia excision". *Int Ophthalmol*, 37:71-78.
- Hu F., Wu M., Kuo S. (1998). "Interferon treatment for corneolimbic squamous dysplasia". *Am J Ophthalmol*, 125:118-119.
- Hwang I., Jordan D., Brownstein S., Gilberg S., McEachren T., Prokopetz R. (2000). "Mucoepidermoid carcinoma of the conjunctiva: a series of three cases". *Ophthalmology*, 107:801-805.
- Jabłonowska-Fudzińska D., Marszałek A., Szyłberg L. (2015). "Tobacco smoking as a cofactor for the development of cervical cancer". *Przegl Lek*, 72:103-105.
- Jakobiec F., Folberg R., Iwamoto T. (1989). "Clinicopathologic characteristics of premalignant and malignant melanocytic lesions of the conjunctiva". *Ophthalmology*, 96:147-166.
- Jakobiec F., Nguyen J., Mandell K., Fay A. (2009). "Complex palpebral odontogenic choristoma: A reappraisal of the origin of teeth-bearing periocular lesions". *Am J Ophthalmol*, 147:531-543.

- Joag M., Gupta A., Galor A., Dubovy S., Bermudez-Magner J., Wang J., Karp C. (2015). "Conjunctival intraepithelial neoplasia with mucoepidermoid differentiation: A case report of a subtle lesion". *Ocul Oncol Pathol*, 1:278-282.
- Joag M., Sise A., Murillo J., Sayed-Ahmed I., Wong J., Mercado C., Galor A., Karp C. (2016). "Topical 5-Fluorouracil 1 % as primary treatment for ocular surface squamous neoplasia". *Ophthalmology*, 123:1442-1448.
- Jones D., Wilhelmus K., Font R. (1991). "Beta Radiation of recurrent corneal intraepithelial neoplasia". *Trans Am Ophthalmol Soc*, 89:285-301.
- Jung S., Lin H., Chu P., Wu H., Shiu T., Huang S., Lai C. (2006). "Expression of cell cycle-regulatory proteins, MIB-1, p16, p53, and p63, in squamous cell carcinoma of conjunctiva: not associated with human papillomavirus infection". *Virchows Arch*, 448:301-305.
- Kabra R., Khaitan I. (2015). "Comparative analysis of clinical factors associated with ocular surface squamous neoplasia in HIV infected and non HIV patients". *J Clin Diagn Res*, 9:1-3.
- Kaimbo W., Kaimbo D., Parys-Van Ginderdeuren R., Missotten L. (1998). "Conjunctival squamous cell carcinoma and intraepithelial neoplasia in AIDS patients in Congo Kinshasa". *Bull Soc Belge Ophtalmol*, 268:135-141.
- Kalbfleisch J., Prentice R. (1980). *The statistical analysis of failure time data*. 2.^a ed. John Wiley y Sons.
- Kaliki S., Freitag S., Chodosh J. (2017). "Nodulo-Ulcerative Ocular Surface Squamous Neoplasia in 6 Patients: A Rare Presentation". *Cornea*, 36:322-326.
- Kaliki S., Singh S., Iram S., Tripuraneni D. (2016). "Recombinant interferon alpha 2b for ocular surface squamous neoplasia: An efficient and cost-effective treatment modality in Asian Indian patients". *Indian J Ophthalmol*, 64:702-709.
- Kanazawa S., Kitaoka T., Ueda Y., Gong H., Amemiya T. (2002). "Interaction of zinc and vitamin A on the ocular surface". *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 240:1011-1021.
- Kao A., Galor A., Karp C., Abdelaziz A., Feuer W., Dubovy S. (2012). "Clinicopathologic correlation of ocular surface squamous neoplasms at Bascom Palmer Eye Institute: 2001 to 2010". *Ophthalmology*, 119:1773-1776.

- Karp C., Galor A., Chhabra S., Barnes S., Alfonso E. (2010). "Subconjunctival/perilesional recombinant interferon alpha 2b for ocular surface squamous neoplasia: a 10-year review". *Ophthalmology*, 117:2241-2246.
- Karp C., Moore J., Rosa R. (2001). "Treatment of conjunctival and corneal intraepithelial neoplasia with topical interferon 2b". *Ophthalmology*, 108:1093-1098.
- Karp C., Scott I., Chang T., Pflugfelder S. (1996). "Conjunctival intraepithelial neoplasia. A possible marker for human immunodeficiency virus infection?" *Arch Ophthalmol*, 114:257-261.
- Kayat K., Correa P., Felberg S., Galvao M., Saieg M. (2017). "Exfoliative cytology in the diagnosis of ocular surface squamous neoplasms". *Cornea*, 36:127-130.
- Kefford R. (2003). "Adjuvant therapy of cutaneous melanoma: the interferon debate". *Ann Oncol*, 14:358-365.
- Kemp E., Harnett A., Chatterjee S. (2002). "Preoperative topical and intraoperative local mitomycin C adjuvant therapy in the management of ocular surface neoplasias". *Br J Ophthalmol*, 86:31-34.
- Kenawy N., Garrick A., Heimann H., Coupland S., Damato B. (2015). "Conjunctival squamous cell neoplasia: the Liverpool Ocular Oncology Centre experience". *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 253:43-50.
- Khong J., Muecke J. (2006). "Complications of mitomycin C therapy in 100 eyes with ocular surface neoplasia". *Br J Ophthalmol*, 90:819-822.
- Kieval J., Karp C., Shousha M., Galor A., Hoffman R., Dubovy S., Wang J. (2012). "Ultra-high resolution optical coherence tomography for differentiation of ocular surface squamous neoplasia and pterygia". *Ophthalmology*, 119:481-486.
- Kiire C., Dhillon B. (2006). "The aetiology and associations of conjunctival intraepithelial neoplasia". *Br J Ophthalmol*, 90:109-113.
- Kim B., Kim M., Wee W., Oh J. (2013). "Clinical and pathological characteristics of ocular surface squamous neoplasia in an Asian population". *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 251:2569-2573.
- Knop N., Knop E. (2000). "Conjunctiva associated lymphoid tissue in the human eye". *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 41:1270-1279.
- Koning M. de, Waddell K., Magyezi J., Purdie K., Proby C., Harwood C., Lucas S., Downing R., Quint W., Newton R. (2008). "Genital and cutaneous human pa-

- pillomavirus (HPV) types in relation to conjunctival squamous cell neoplasia: a case-control study in Uganda". *Infect Agent Cancer*, 3:12.
- Kusumesh R., Ambastha A., Sinha B., Kumar R. (2015). "Topical interferon alfa-2b as a single therapy for primary ocular surface squamous neoplasia". *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*, 4:243-316.
- Lecuona K., Stannard C., Hart G., Rice J., Cook C., Wetter J., Duffield M. (2015). "The treatment of carcinoma in situ and squamous cell carcinoma of the conjunctiva with fractionated strontium-90 radiation in a population with a high prevalence of HIV". *Br J Ophthalmol*, 0:1-4.
- Lee G., Hirst L. (1992). "Incidence of ocular surface epithelial dysplasia in metropolitan Brisbane". *Arch Ophthalmol*, 110:525-527.
- Lee G., Hirst L. (1995). "Ocular surface squamous neoplasia". *Surv Ophthalmol*, 39:429-450.
- Lee G., Hirst L. (1997). "Retrospective study of ocular surface squamous neoplasia". *Aust N Z J Ophthalmol*, 25:269-276.
- Lee J., Kim Y., Kim M., Kim E. (2014). "The effect of surgical wide excision and amniotic membrane transplantation with adjuvant topical mitomycin C treatment in recurrent conjunctiva-corneal intraepithelial neoplasia". *Semin Ophthalmol*, 29:192-195.
- Li A., Shih C., Rosen L., Steiner A., Milman T., Udell I. (2015). "Recurrence of ocular surface squamous neoplasia treated with excisional biopsy and cryotherapy". *Am J Ophthalmol*, 160:213-219.
- Li H., Yang Y., Zhang P., Zhao P., Zheng T., Dai M. (2011). "Human papillomavirus infection and bladder Cancer risk: a meta-analysis". *J Infect Dis*, 204:217-223.
- Li X., Gao C., Yang Y., Zhou F., Li M., Jin Q., Gao L. (2014). "Systematic review with meta-analysis: the association between human papillomavirus infection and oesophageal cancer". *Aliment Pharmacol Ther*, 39:270-281.
- Lissouba P., Van de Perre P., Auvert B. (2013). "Association of genital human Papillomavirus infection with VIH acquisition: a Systematic Review and meta-analysis". *Sex Transm Infect*, 89:350-56.
- Liu S., Klein-Szanto A. (2000). "Markers of proliferation in normal and leukoplakic oral epithelia". *Oral Oncol*, 36:145-151.

- Logarinho E., Bousbaa H. (2008). "Kinetochore microtubulare interactions "in check" by Bub1, Bub3 and BubR1: the dual task of attaching and signaling". *Cell Cycle*, 7:1763-1768.
- Lomanto L., Ortiz O., Gómez A., Mesa V. (2003). "El ciclo celular". *MedUNAB*, 6:21-29.
- Lopez F., Belloc F., Lacombe F., Dumain P., Reiffers J., Bernard P., Boisseau M. (1991). "Modalities of synthesis of Ki67 antigen during the stimulation of lymphocytes". *Cytometry*, 12:42-49.
- López-Caballero C., Saornil-Álvarez M., Blanco-Mateos G., Frutos-Baraja J., López-Lara F., González-Sansegundo C. (2003). "Melanoma de coroides en melanosis óculi". *Arch Soc Esp Oftalmol*, 78:99-102.
- Lundin K., Nygren A., Arthur L., Robey W., Morein B., Ramstedt U., Gidiund M., Wigzeli H. (1987). "A specific assay measuring binding of 125I-Gp 120 from HIV to T4+/CD4+ cells". *J Immunol Methods*, 97:93-100.
- Mahomed A., Chetty R. (2002). "Human immunodeficiency virus Infection, Bcl-2, p53 protein, and Ki-67. Analysis in ocular surface squamous neoplasia". *Arch Ophthalmol*, 120:554-558.
- Makino T., Tatebe S., Goto A., Mihara M., Ito H. (1998). "Apoptosis and cellular proliferation in human epidermal squamous cell neoplasia". *J Cutan Pathol*, 25:136-142.
- Makupa I., Swai B., Makupa W., White V., Lewallen S. (2012). "Clinical factors associated with malignancy and HIV status in patients with ocular surface squamous neoplasia at Kilimanjaro Christian Medical Centre, Tanzania". *Br J Ophthalmol*, 96:482-484.
- Malik M., El Sheikh E. (1979). "Tumors of the eye and adnexa in Sudan". *Cancer*, 44:293-303.
- Mansour A., Barber J., Reinecke R., Wang F. (1989). "Ocular choristomas". *Surv Ophthalmol*, 33:339-358.
- Maskin S. (1994). "Regression of limbal epithelial dysplasia with topical interferon". *Arch Ophthalmol*, 112:1145-1146.
- Massagué J. (2004). "G1 cell-cycle control and cancer". *Nature*, 432:298-306.

- McClellan A., McClellan A., Pezon C., Karp C., Feuer W., Galor A. (2013). "The epidemiology of ocular surface squamous neoplasia in a Veterans Affairs population". *Cornea*, 32:1354-1358.
- McDonnell P., McDonnell J., Kessis T., Green W., Shah K. (1987). "Detection of human papillomavirus type 6/11 DNA in conjunctival papillomas by in situ hybridization with radioactive probes". *Hum Pathol*, 18:1115-1119.
- McGavie J. (1942). "Intraepithelial epithelioma of cornea and conjunctive (Bowen's disease)". *Am J Ophthalmol*, 25:167-176.
- McKelvie P. (2003). "Ocular surface impression cytology". *Adv Anat Pathol*, 10:328-337.
- McKelvie P., Daniell M., McNab A., Loughnan M., Santamaria J. (2002). "Squamous cell carcinoma of the conjunctiva: a series of 26 cases". *Br J Ophthalmol*, 86:168-173.
- Midena E., Angeli C., Valenti M., de Belvis V., Boccato P. (2000). "Treatment of conjunctival squamous cell carcinoma with topical 5-fluorouracil". *Br J Ophthalmol*, 84:268-272.
- Miller J., Laycock K., MM. N., Pepose J. (1993). "Corneal Langerhans cell dynamics after herpes simplex virus reactivation". *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 34:2282-2290.
- Mishra D., Veena U., Kaliki S., Kethiri A., Sangwan V., Ali M., Naik M., Singh V. (2016). "Differential expression of stem cell markers in ocular surface squamous neoplasia". *PLoS One*, 11.
- Mittal R., Rath S., Vemuganti G. (2013). "Ocular surface squamous neoplasia - Review of etio-pathogenesis and an update on clinico-pathological diagnosis". *Saudi J Ophthalmol*, 27:177-186.
- Miyachi K., Fritzler M., Tan E. (1978). "Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells". *J Immunol*, 121:2228-2234.
- Moloney T., Trinh T., Farrah J. (2014). "A case of conjunctival mucoepidermoid carcinoma in Australia". *Clin Ophthalmol*, 8:11-14.
- Moon C., Nanji A., Galor A., McCollister K., Karp C. (2016). "Surgical versus medical treatment of ocular surface squamous neoplasia: a cost comparison". *Ophthalmology*, 123:497-504.

- Muller L., Pels E., Vrensen G. (2001). "The specific architecture of the anterior stroma accounts for maintenance of corneal curvature". *Br J Ophthalmol*, 85:437-443.
- Munoz N. (2000). "Human papillomavirus and cancer: the epidemiological evidence". *J Clin Virol*, 19:1-5.
- Myoung H., Kim M., Lee J., Ok Y., Paeng J., Yun P. (2006). "Correlation of proliferative markers (Ki-67 and PCNA) with survival and lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma: a clinical and histopathological analysis of 113 patients". *Int J Oral Maxillofac Surg*, 35:1005-1010.
- Nagaiah G., Stotler C., Orem J., Mwanda W., Remick S. (2010). "Ocular surface squamous neoplasia in patients with HIV infection in sub-Saharan Africa". *Curr Opin Oncol*, 22:437-442.
- Nagata M., Nakamura T., Sotozono C., Inatomi T., Yokoi N., Kinoshita S. (2014). "LRIG1 as a potential novel marker for neoplastic transformation in ocular surface squamous neoplasia". *PLoS One*, 9:1-8.
- Nanji A., El Sayyad F., Galor A., Dubovy S., Karp C. (2015). "High-Resolution Optical Coherence Tomography as an adjunctive tool in the diagnosis of corneal and conjunctival pathology". *Ocul Surf*, 13:226-235.
- Nanji A., Moon C., Galor A., Sein J., Oellers P., Karp C. (2014). "Surgical versus medical treatment of ocular surface squamous neoplasia". *Ophthalmology*, 121:994-1000.
- Nanji A., Sayyad F., Karp C. (2013). "Topical chemotherapy for ocular surface squamous neoplasia". *Curr Opin Ophthalmol*, 24:1-7.
- Napora C., Cohen E., Genvert G., Presson A., Arentsen J., Eagle R., Laibson P. (1990). "Factors associated with conjunctival intraepithelial neoplasia: A case control study". *Ophthalmic Surg*, 21:27-30.
- Newton R., Ferlay J., Reeves G., Beral V., Parkin D. (1996). "Effect of ambient solar ultraviolet radiation on incidence of squamous-cell carcinoma of the eye". *Lancet*, 347:1450-1451.
- Newton R., Ziegler J., Beral V. (2001). "A case-control study of human immunodeficiency virus infection and cancer in adults and children residing in Kampala, Uganda". *Int J Cancer*, 92:622-627.

- Newton R., Ziegler J., Ateenyi-Agaba C., Bousarghin L., Casabonne D., Beral V., Mbidde E. (2002). "The epidemiology of conjunctival squamous cell carcinoma in Uganda". *Br J Cancer*, 87:301-308.
- Nolan G., Hirst L., Wright R., Bancroft B. (1994). "Application of impression cytology to the diagnosis of conjunctival neoplasms". *Diagn Cytopathol*, 11:246-249.
- Norval M., Mcloone P., Lesiak A., Narbutt J. (2008). "The effects of chronic ultraviolet radiation on the human immune system". *J Photochem Photobiol A Chem*, 84:19-28.
- Odrich M., Jakobiec F., Lancaster W., Kenyon K., Kelly L., Kornmehl E., Steinert R., Grove A., Shore J., Gregoire L. (1991). "A spectrum of bilateral squamous conjunctival tumors associated with human papillomavirus type 16". *Ophthalmology*, 98:628-635.
- Ogun G., Ogun O., Bekibele C., Akang E. (2009). "Intraepithelial and invasive squamous neoplasms of the conjunctiva in Ibadan, Nigeria: a clinicopathological study of 46 cases". *Ophthalmology*, 29:401-409.
- Ohara M., Sotozono C., Tsuchihashi Y., Kinoshita S. (2004). "Ki-67 labeling index as a marker of malignancy in ocular surface neoplasms". *Jpn J Ophthalmol*, 48:524-529.
- Ong S., Vora G., Gupta P. (2016). "Anterior segment imaging in ocular surface squamous neoplasia". *Ophthalmology*:en prensa.
- Palamar M., Kaya E., Egrilmez S., Akalin T., Yagci A. (2014). "Amniotic membrane transplantation in surgical management of ocular surface squamous neoplasias: long-term results". *Eye*, 28:1131-1135.
- Pantanowitz L., Dezube B. (2008). "Kaposi sarcoma in unusual locations". *BMC Cancer*, 8:1-9.
- Paridaens A., Minassian D., McCartney A., Hungerford J. (1994). "Prognostic factors in primary malignant melanoma of the conjunctiva: a clinicopathological study of 256 cases". *Br J Ophthalmol*, 78:252-259.
- Parrozzani R., Frizziero L., Trainiti S., Testi I., Miglionico G., Pilotto E., Blandamura S., Fassina A., Midena E. (2016). "Topical 1 % 5-fluoruracil as a sole treatment of corneoconjunctival ocular surface squamous neoplasia: long-term study". *Br J Ophthalmol*:En Prensa.

- Parrozzani R., Lazzarini D., Dario A., Midena E. (2011). "In vivo confocal microscopy of ocular surface squamous neoplasia". *Eye*, 25:455-460.
- Peksayar G., Altan-Yaycioglu R., Onal S. (2003). "Excision and cryo-surgery in the treatment of conjunctival malignant epithelial tumours". *Eye*, 17:228-232.
- Pérez-López M., García-Gómez J., Alves M., Paradela A., García-Mata J., García-Caballero T. (2016). "Ki-67 is a prognostic marker for hormone receptor positive tumors". *Clin Transl Oncol*, 18:996-1002.
- Pinto M., Soares M., Cerveira N., Henrique R., Ribeiro F., Oliveira J., Jerónimo C., Teixeira M. (2007). "Expression changes of the MAD mitotic checkpoint gene family in renal cell carcinoma characterized by numerical chromosome changes". *Virchows Arch*, 450:379-385.
- Pizzarello L., Jakobiec F. (1978). "Bowen's disease of the conjunctiva: a misnomer". En: *Ocular and adnexal tumors*. Ed. por Jakobiec. Aesculapius, 553-571.
- Pola E., Masanganise R., Rusakaniko S. (2003). "The trend of ocular surface squamous neoplasia among ocular surface tumour biopsies submitted for histology from Sekuru Kaguvi Eye Unit, Harare between 1996 and 2000". *Cent Afr J Med*, 49:1-4.
- Poole T. (1999). "Conjunctival squamous cell carcinoma in Tanzania". *Br J Ophthalmol*, 83:177-179.
- Poon T., Barnetsen R., Halliday G. (2005). "Sunlight-induced immunosuppression in human is initially because of UVB, then UVA followed by interactive effects". *J Invest Dermatol*, 125:840-846.
- Poothullil A., Colby K. (2006). "Topical medical therapies for ocular surface tumors". *Semin Ophthalmol*, 21:161-169.
- Porges Y., Groisman G. (2003). "Prevalence of HIV with conjunctival squamous cell neoplasia in an African provincial hospital". *Cornea*, 22:1-4.
- Pradeep T., Gangasagara S., Subbaramaiah G., Suresh M., Gangashettappa N., Durgappa R. (2012). "Prevalence of undiagnosed HIV infection in patients with ocular surface squamous neoplasia in a tertiary center in Karnataka, south India". *Cornea*, 31:1282-1284.
- Rafferty M., Helliwell T., Husband D., Fenton J., Jones T., Jones A. (2008). "Expression of cell cycle associated proteins influences radiocurability of T2N0 squamous cell carcinoma of the larynx". *Oral Oncol*, 44:975-981.

- Rastogi R., Kumar A., Tyagi M., Sinha R. (2010). "Molecular mechanisms of ultra-violet radiation-induced DNA damage and repair". *J Nucleic Acids*, 2010:32.
- Rice J. (2011). "Ultra-violet radiation is responsible for the differences in global epidemiology of chickenpox and the evolution of varicella-zoster virus as man migrated out of Africa". *Virol J*, 8:189.
- Robinson J., Brownstein S., Jordan D., Hodge W. (2006). "Conjunctival mucoepithelioid carcinoma in a patient with ocular cicatricial pemphigoid and a review of the literature". *Surv Ophthalmol*, 51:513-519.
- Rodríguez-Ares T., Touriño-Peralba R., Mera-Yañez P. (2004). "Tumores de la superficie ocular". En: ed. por Benitez-del Casillo, Duran-de la Colina, Rodríguez-Ares. Madrid: Mac Line, 169-178.
- Romero I., Barros J., Martins M., Ballalai P. (2013). "The use of 1 % toluidine blue eye drops in the diagnosis of ocular surface squamous neoplasia". *Cornea*, 32:36-39.
- Rozenman Y., Frucht-Pery J. (2000). "Treatment of conjunctival intraepithelial neoplasia with topical drops of mitomycin c". *Cornea*, 19:1-16.
- Rudkin A., Dempster L., Muecke J. (2015). "Management of diffuse ocular surface squamous neoplasia: efficacy and complications of topical chemotherapy". *Clin Experiment Ophthalmol*, 43:20-25.
- Rudkin A., Dodd T., Muecke J. (2011). "The differential diagnosis of localised amelanotic limbal lesions: a review of 162 consecutive excisions". *Br J Ophthalmol*, 95:350-354.
- Russell H., Chadha V., Lockington D., Kemp E. (2010). "Topical mitomycin C chemotherapy in the management of ocular surface neoplasia: a 10-year review of treatment outcomes and complications". *Br J Ophthalmol*, 94:1316-1321.
- Ruszczak Z., Schwartz R. (1997). "Interferons in dermatology: biology, pharmacology, and clinical applications". *Adv Dermatol*, 13:235-288.
- Saornil M., Becerra E., Méndez M., Blanco G. (2009). "Tumores de la conjuntiva". *Arch Soc Esp Oftalmol*, 84:7-22.
- Schechter B., Koreishi A., Karp C., Feuer W. (2008). "Long-term follow-up of conjunctival and corneal intraepithelial neoplasia treated with topical interferon alfa-2b". *Ophthalmology*, 115:1291-1296.

- Scheirber R., Old L., Smyth M. (2011). "Cancer immunoediting: integrating immunity's role in cancer suppression and promotion". *Science*, 331:1565-1570.
- Schonk D., Kuijpers H., Drunen E., Dalen C., Geurts van Kessel A., Verheijen R., Ramaekers F. (1989). "Assignment of the gene(s) involved in the expression of the proliferation-related Ki-67 antigen to human chromosome 10". *Hum Genet*, 83:297-299.
- Schwarz T., Schwarz A. (2011). "Molecular mechanisms of ultraviolet radiation-induced immunosuppression". *Eur J Cell Biol*, 90:560-564.
- Sepulveda R., Peter J., Miden E., Seregard S., Dua H., Singh A. (2010). "Topical chemotherapy for ocular surface squamous neoplasia: current status". *Br J Ophthalmol*, 94:532-535.
- Seregard S. (1998). "Conjunctival melanoma". *Surv Ophthalmol*, 42:321-350.
- Shah S., Kaliki S., Kim H., Lally S., Shields J., Shields C. (2012). "Topical interferon alfa-2b for management of ocular surface squamous neoplasia in 23 cases". *Arch Ophthalmol*, 130:159-164.
- Shields C., Shields J. (2004). "Tumors of the conjunctiva and cornea". *Surv Ophthalmol*, 49:3-24.
- Shields C., Shields J., Carvalho C., Rundle P., Smith A. (2001a). "Conjunctival lymphoid tumors: clinical Analysis of 117 cases and relationship to systemic lymphoma". *Ophthalmology*, 108:979-984.
- Shields C., Shields J., Honavar S., Demirci H. (2001b). "Clinical spectrum of primary ophthalmic rhabdomyosarcoma". *Ophthalmology*, 108:2284-2292.
- Shields C. (2000). "Conjunctival melanoma: risk factors for recurrence, exenteration, metastasis, and death in 150 consecutive patients". *Trans Am Ophthalmol Soc*, 98:471-492.
- Shields C., Demirci H., Karatza E., Shields J. (2004). "Clinical survey of 1643 melanocytic and nonmelanocytic conjunctival tumors". *Ophthalmology*, 111:1747.
- Shields C., Naseripour M., Shields J. (2002). "Topical mitomycin C for extensive, recurrent conjunctival-corneal squamous cell carcinoma". *Am J Ophthalmol*, 133:601-606.
- Shields J., Shields C., Eagle R. (1997a). "Ophthalmic features of the organoid nevus syndrome". *Ophthalmology*, 104:549-557.

- Shields J., Shields C., De Potter P. (1997b). "Surgical management of conjunctival tumors". *Arch Ophthalmol*, 115:808-815.
- Shields J., Shields C., Gunduz K. (1999). "Intraocular invasion of conjunctival squamous cell carcinoma in five patients". *Ophthal Plast Reconstr Surg*, 15:153-160.
- Shousha M., Karp C., Canto A., Hodson K., Oellers P., Kao A., Bielory B., Matthews J., Dubovy S., Perez V., Wang J. (2013). "Diagnosis of ocular surface lesions using ultra-high resolution optical coherence tomography". *Ophthalmology*, 120:883-891.
- Siedlecki A., Tapp S., Tosteson A., Larson R., Karp C., Lietman, Zegans M. (2016). "Surgery versus Interferon Alpha-2b treatment strategies for ocular surface squamous neoplasia: a literature-based decision analysis". *Cornea*, 35:613-618.
- Singh A., De Potter P., Fijal B., Shields J., Elston R. (1998). "Lifetime prevalence of uveal melanoma in white patients with ocular (dermal) melanocytosis". *Ophthalmology*, 105:195-198.
- Steffen J., Rice J., Lecuona K., Carrara H. (2014). "Identification of ocular surface squamous neoplasia by in vivo staining with methylene blue". *Br J Ophthalmol*, 98:13-15.
- Stone D., Butt A., Chodosh J. (2005). "Ocular surface squamous neoplasia: a standard of care survey". *Cornea*, 24:297-300.
- Sturges A., Butt A., Lai J., Chodosh J. (2008). "Topical interferon or surgical excision for the management of primary ocular surface squamous neoplasia". *Ophthalmology*, 115:1297-1302.
- Sudesh S., Rapuano C., Cohen E., Eagle R., Laibson P. (2000). "Surgical management of ocular surface squamous neoplasms: the experience from a cornea center". *Cornea*, 19:278-283.
- Sun E., Fears T., Goedert J. (1997). "Epidemiology of squamous cell conjunctival cancer". *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 6:73-77.
- Tabin G., Levin S., Snibson G., Loughnan M., Taylor H. (1997). "Late recurrences and the necessity for long-term follow-up in corneal and conjunctival intraepithelial neoplasia". *Ophthalmology*, 104:485-492.

- Telugu R., Chowhan A., Rukmangadha N., Patnayak R., Phaneendra B., Prasad B., Reddy M. (2016). "Histopathological and immunohistochemical evaluation of meningiomas with reference to proliferative markers p53 and Ki-67". *J Clin Diagn Res*, 10:15-19.
- Templeton A. (1967). "Tumors of the eye and anexas in Africa in Uganda". *Cancer*, 20:1689-1698.
- Teng C., Chin J., Finger P. (2009). "Subconjunctival ranibizumab for squamous cell carcinoma of the conjunctiva with corneal extension". *Br J Ophthalmol*, 93:837-838.
- Thomas B., Galor A., Nanjji A., El Sayyad F., Wang J., Dubovy S., Joag M., Karp C. (2014). "Ultra high-resolution anterior segment optical coherence tomography in the diagnosis and management of ocular surface squamous neoplasia". *Ocul Surf*, 12:46-58.
- Thunnissen F., Ambergen A., Koss M., Travis W., Ellis I. (2001). "Mitotic counting in surgical pathology: sampling bias, heterogeneity and statistical uncertainty". *Histopathology*, 39:1-8.
- Tole D., McKelvie P., Daniel M. (2001). "Reliability of impression cytology for the diagnosis of ocular surface squamous neoplasia employing the biopore membrane". *Br J Ophthalmol*, 85:154-158.
- Tornesello M., Duraturo M., Waddell K., Biryahwaho B., Downing R., Balinandi S., Lucas S., Buonaguro L., Buonaguro F. (2006). "Evaluating the role of human papillomaviruses in conjunctival neoplasia". *Br J Ophthalmol*, 94:446-449.
- Torres Suárez E., Pinheiro R., Schrage N. (2016). "Complications in the treatment of ocular surface squamous neoplasia with interferon alpha-2b in rheumatoid arthritis [german]". *Ophthalmologe*:En Prensa.
- Tseng S. (1989). "Concept and application of limbal stem cells". *Eye*, 3:141-157.
- Tulvatana W., Bhattarakosol P., Sansopha L., Sipiyarak W., Kowitdamrong E., Paisuntornsug T., Kainsawai S. (2003). "Risk factors for conjunctival squamous cell neoplasia: a matched case-control study". *Br J Ophthalmol*, 87:396-398.
- Tunc M., Char D., Crawford B., Miller T. (1999). "Intraepithelial and invasive squamous cell carcinoma of the conjunctiva: analysis of 60 cases". *Br J Ophthalmol*, 83:98-103.

- Vann R., Karp C. (1999). "Perilesional and topical interferon alfa-2b for conjunctival and corneal neoplasia". *Ophthalmology*, 106:91-97.
- Wabinga H., Parkin D., Wabwire-Mangen F., Nambooz S. (2000). "Trends in cancer incidence in Kyadondo country, Uganda, 1960–1997". *Br J Cancer*, 82:1585-1592.
- Waddell K., Kwebangana J., Johnston W. (2010). "A case-control study of ocular surface squamous neoplasia (OSSN) in Uganda". *Int J Cancer*, 127:427-432.
- Waddell K., Lewallen S., Lucas S., Atenyi-Agaba C., Herrington C., Liomba G. (1996). "Carcinoma of the conjunctiva and HIV infection in Uganda and Malawi". *Br J Ophthalmol*, 80:503-508.
- Waring G., Roth A., Ekins M. (1984). "Clinical and pathologic description of 17 cases of corneal intraepithelial neoplasia". *Am J Ophthalmol*, 97:547-559.
- Wilson F. (1976). "Rose bengal staining of epibulbar squamous neoplasms". *Ophthalmic Surg*, 7:21-23.
- Wilson M., Hungerford J., George S., Madreperla S. (1997). "Topical mitomycin C for the treatment of conjunctival and corneal epithelial dysplasia and neoplasia". *Am J Ophthalmol*, 124:303-311.
- Winter F., Kleh P. (1960). "Precancerous epithelioma of the limbus". *Arch Ophthalmol*, 64:208-215.
- Yang J., Foster C. (1997). "Squamous cell carcinoma of the conjunctiva". *Int Ophthalmol Clin*, 37:73-85.
- Yeatts R., Ford J., Stanton C., Reed J. (1995). "Topical 5-fluorouracil in treating epithelial neoplasia of the conjunctiva and cornea". *Ophthalmol*, 102:1338-1344.
- Yousef Y., Finger P. (2012). "Squamous carcinoma and dysplasia of the conjunctiva and cornea: an analysis of 101 cases". *Ophthalmology*, 119:233-240.
- Zaki A., Fouad H., Emera S. (2009). "Subconjunctival anti-VEGF for conjunctival intraepithelial and invasive neoplasia". *Aust J Basic Appl Sci*, 3:3186-3189.
- Zarei-Ghanavati S., Alizadeh R., Deng S. (2014). "Topical Interferon alpha-2b for treatment of noninvasive ocular surface squamous neoplasia with 360° limbal involvement". *J Ophthalmic Vis Res*, 9:423-426.
- Zhang P., Nouri M., Brandsma J., Iftner T., Steinberg B. (1999). "Induction of E6/E7 expression in cottontail rabbit papillomavirus latency following UV activation". *Virol J*, 263:388-394.

Bibliografía

Zoroquiain P., Jabbour S., Aldrees S., Villa N., Bravo-Filho V., Dietrich H., Logan P., Burnier M. (2016). “High frequency of squamous intraepithelial neoplasia in pterygium related to low ultraviolet light exposure”. *Saudi J Ophthalmol*, 30:113-116.





Índice de apéndices

A.1	Valores de las variables clínicas analizadas de cada paciente . . .	155
A.2	Valores de los datos clínicos, histopatológicos e inmunohistoquímicos	156
A.3	Optical signs of ocular surface lesions	157
A.4	Comparison of imaging modalities for the diagnosis of OSSN . .	158
A.5	Advantages and disadvantages of adjunctive diagnostic modalities in OSSN	158
A.6	Análisis de probabilidad de recidiva de las OSSN	159
A.7	Supervivencia libre de recidiva según diagnóstico histopatológico	160
A.8	Supervivencia libre de recidiva según tamaño	161
A.9	Supervivencia libre de recidiva según localización	162
A.10	Supervivencia libre de recidiva según tejido afectado	163
A.11	Supervivencia libre de recidiva según tratamiento	164



APÉNDICES





Tabla A.1: Valores de las variables clínicas analizadas de cada paciente

Sexo	Ant.tumor	Edad.dx	Color.Ojo	Mancha.Piel	Trabajo	Color.Piel	Raza	Sintoma.dx	Tiempo.dx	Ojo	Aspecto.Lesion	Tejido.Afectado	Localizacion
1	0	82	2	0	1	1	1	1	24	1	2	3	3
1	0	27	3	1	2	1	1	2	24	1	2	1	2
1	0	74	1	1	1	1	1	1	24	2	2	1	2
1	0	74	1	1	1	1	1	1	12	1	2	1	1
1	0	79	2	0	1	1	1	2	12	2	1	1	1
1	1	73	2	0	1	1	1	2	12	1	3	1	1
1	0	28	2	0	2	2	1	1	6	1	2	1	2
2	0	82	2	0	1	1	1	1	24	1	2	3	2
1	0	84	2	1	1	1	1	1	12	2	1	1	1
2	0	72	2	0	1	2	1	2	6	1	1	1	2
1	0	22	2	0	2	1	1	2	24	2	2	1	2
1	0	80	2	0	1	1	1	0	24	1	1	1	8
1	0	67	3	0	1	2	1	1	36	1	3	3	6
2	0	66	1	1	2	1	1	3	12	1	4	1	2
1	0	75	1	1	1	2	1	2	36	2	2	3	1
1	0	67	2	1	2	1	1	1	24	2	1	3	2
2	1	66	2	1	2	1	1	4	24	2	4	1	
1	0	52	2	1	2	1	1	2	24	1	1	1	2
1	0	74	2	1	1	2	1	2	18	1	2	1	2
2	0	76	2	0	2	2	1	1	6	2	2	1	3
1	1	72	2	1	1	1	1	3	1	1	1	1	1
2	1	44	2	0	2	2	1	1	24	1	4	3	2
1	0	80	2	0	1	1	1	3	24	2	1	3	2
2	0	83	2	0	1	1	1	1	60	1	2	1	2
2	0	84	2	0	1	2	1	4	36	2	3	3	8
2	1	79	3	1	1	1	1	1	3	2	1	2	1
2	0	83	2	1	1	2	1	2	36	2	1	1	6
2	1	76	2	1	1	1	1	5	6	1	1	1	6
1	0	68	2	1	2	2	1	1	9	1	2	1	1
1	1	89	2	0	1	2	1	1	3	2	1	3	
1	1	85	2	0	1	1	1	2	24	2	1	3	6
1	0	63	2	0	1	1	1	1	36	2	1	1	4
1	0	76	2	0	1	2	1	2	6	1	1	3	2
1	0	69	2	1	2	1	1	1	10	2	2	3	3
1	1	84	2	1	2	2	1	3	10	2	1	1	6
2	0	67	2	0	1	1	1	1	24	1	2	1	2
2	0	86	2	1	1	1	1	1	2	2	2	1	2
2	0	79	2	1	1	1	1	1	4	1	3	1	6
1	0	78	3	0	1	2	1	1	6	2	2	1	1
1	0	72	1	0	1	2	1	1	24	1	1	3	3
1	0	45	1	1	2	1	1	3	4	1	2	1	2
1	0	77	2	1	1	1	1	1	3	2	2	2	1
1	1	75	3	1	1	1	1	1	36	2	2	3	8
1	1	82	3	1	1	1	1	2	72	2	2	3	6
2	0	70	1	1	1	1	1	3	72	2	2	3	2
2	1	82	1	1	1	1	1	1	36	1	1	1	1
1	1	87	1	1	1	1	1	2	12	1	2	1	6
1	0	91	1	0	2	2	1	2	10	2	1	3	1
2	1	80	1	1	1	1	1	2	12	2	2	1	2
1	1	52	1	1	2	2	1	1	6	2	3	1	
1	0	69	2	1	2	1	1	2	3	1	3	2	2
1	0	73	2	1	1	1	1	1	12	1	2	2	1
2	0	53	2	0	1	1	1	2	6	1	1	1	1
2	0	73	2	0	2	1	1	1	12	1	1	3	1
1	0	77	2	0	1	1	1	1	12	1	1	3	1
1	0	86	2	0	1	2	1	1	7	1	2	3	2
1	0	62	3	1	2	1	1	1	2	2	2	3	2
1	0	53	2	0	2	1	1	2	2	2	1	3	5
1	0	81	2	0	2	1	1	2	3	2	2	3	5
1	1	55	2	0	2	1	1	1	6	1	2	3	6
1	0	76	1	1	1	1	1	2	10	1	1	3	1
2	1	33	1	1	1	1	1	2	1	1	2	1	4
1	0	78	2	0	1	1	1	1	6	1	2	3	6
1	1	79	2	1	1	1	1	1	12	1	2	3	1
1	0	72	2	1	1	1	1	1	12	1	1	3	6
1	1	56	2	1	1	1	1	1	3	1	1	1	6
2	0	45	2	1	1	1	1	1	6	2	1	3	1
2	0	78	1	1	1	1	1	1	12	2	1	3	2

SEXO: 1-hombre, 2-mujer; ANT.TUMOR: 0-ninguna, 1-otras neoplasias; COLOR.OJOS: 1-verdes, 2-marrones, 3-azules;

MANCHAS.PIEL: 1-si, 2-no; TRABAJO: 1-aire libre, 2-espacios cerrados; COLOR.PIEL: 1-clara, 2-morena;

RAZA: 1-caucásica, 2-negra, 3-otras; SINTOMA.DX: 0-nada, 1-lesión, 2-ojo rojo, 3-cuerpo extraño, 4-lagrimoso,

5-exoftalmus y retracción palpebral; OJO: 1-derecho, 2-izquierdo, 3-ambos;

ASPECTO.LESION: 1-gelatinosa, 2-papilomatosa, 3-leucoplásica, 4-otros;

TEJIDO.AFECTADO: 1-conjuntiva, 2-córnea, 3-conjuntiva y córnea;

LOCALIZACION: 1-temporal, 2-nasal, 3-superior, 4-inferior, 5-t-s,(1,3), 6-t-i (1,4), 7-n-s (2,3), 8-n-i (2,4)

Tabla A.2: Valores de los datos clínicos, histopatológicos e inmunohistoquímicos

Aspecto.Lesión	Grado.Difer.	Diag.Histopat.	Ki-67 (%)	p21 (%)
2	-	3	-	-
2	-	3	-	-
2	2	4	-	-
2	-	3	-	-
1	-	3	-	-
3	1	4	19	1
2	-	1	2	9
2	-	3	34	17
1	-	1	7	3
1	-	1	7	10
2	-	2	-	-
1	-	3	-	-
3	-	2	-	-
4	-	1	2	1
2	-	2	9	21
1	-	1	2	3
4	-	3	-	-
1	-	2	44	0
2	1	5	-	-
2	1	5	-	-
1	1	5	-	-
4	2	5	34	3
1	1	5	11	9
2	2	5	4	2
3	1	5	65	20
1	-	3	21	1
1	2	4	22	3
1	1	5	27	16
2	1	5	22	17
1	1	5	2	19
1	1	5	-	-
1	-	3	36	5
1	1	5	12	0
2	-	3	-	-
1	1	5	43	3
2	-	3	34	0
2	-	1	5	10
3	-	1	-	-
2	-	3	-	-
1	1	5	-	-
2	-	2	-	-
2	-	3	-	-
2	1	5	26	10
2	1	4	36	2
2	-	1	-	-
1	1	5	21	5
2	1	5	20	0
1	1	5	3	4
2	1	5	26	2
3	-	1	-	-
3	-	2	-	-
2	-	2	-	-
1	-	1	-	-
1	2	5	81	3
1	-	3	48	5
2	1	4	20	7
2	1	5	42	55
1	1	5	83	44
2	1	5	87	30
2	1	5	42	26
1	-	2	4	0
2	-	1	3	0
2	1	5	81	3
2	-	2	77	7
1	-	2	-	-
1	2	4	50	1
1	-	4	30	14
1	2	2	-	-

ASPECTO.LESIÓN: 1-gelatinosa, 2-papilomatosa, 3-leucoplásica, 4-otros;
 GRADO.DIFERENCIACIÓN: 1-bien diferenciado, 2-pobremente diferenciado;
 DIAGNÓSTICO.HISTOPATOLÓGICO: 1-displasia leve, 2-displasia moderada, 3-displasia severa,
 4-ca in situ, 5-ca invasivo

Tabla A.3: Optical signs of ocular surface lesions

	Epithelial layer		Subepithelial layers
	Thickness	Reflectivity	
PAM	Normal	Moderately hyper-reflective with strong regular hyper-reflectivity of basal epithelium	No invasion in the sub-epithelial tissue layers
Amelanotic Melanoma	Normal or mildly thickened	Epithelial cleavage which indicates some involvement of the epithelium with atypical melanocytes.	Severely hyper-reflective sup-epithelial lesion
Nevi	Normal or mildly thickened	In compound nevi, lesion is seen in the epithelium and substantia propria.	Significant shadow obscuring the end point of the lesion
OSSN	Severely thickened	Hyper-reflective epithelium Abrupt transition between normal and affected epithelium. Cleavage plane between the lesion and underlying tissue may be seen in some lesions In large lesions a shadow from the hyper-reflective epithelium may obscure inferior border	Well circumscribed highly hyper-reflective lesion Confined to the substantia propria in subepithelial nevi Cysts within the subepithelial tissue Shadow casted may sometimes obscure the posterior border of the lesion
Conjunctival Histiocytosis	Normal	Normal	Uninvolved in CCIN
Conjunctival Lymphoma	Normal	Normal	Well circumscribed lesion Stippled by small hyper-reflective dots suggestive of an infiltration Intralesional round and oval hypo-reflective areas suggestive of blood vessels. Homogenous, hypo-reflective and dark lesion Seemed to be formed of small stippled hyper-reflective dots suggestive of a homogenous cell population. Some shadow is casted by the mass on the underlying tissue. Well demarcated from the underlying tissue. Lesion has both hypo-reflective areas with interspaced areas/lines of hyper-reflectivity. Inhomogeneous.
Pterygia	Normal	Moderate hyper-reflectivity or normal	Highly hyper-reflective fibrillary sub-epithelial demarcated layer under the conjunctival epithelium and present between the corneal epithelium and Bowman's layer.

PAM: Conjunctival Primary Acquired Melanosis
 OSSN: Ocular Surface Squamous Neoplasia
 Fuente: Shousha et al., (2013)

Tabla A.4: Comparison of imaging modalities for the diagnosis of ocular surface squamous neoplasia

Imaging Modality	Advantages	Disadvantages
Clinical examination	In vivo examination, can assess staining characteristics, mobility of lesion.	Difficult to determine lesion depth precisely, unable to assess cellular morphology.
Biopsy/histopathology	Gold standard: direct examination at cellular level of involved tissues, and the only modality that allows for diagnosis of tissue invasion.	Requires surgical intervention.
Impression cytology	Able to examine superficial tissue at a cellular level.	Only assesses surface cells, not deeper levels.
Ultrasound biomicroscopy (UBM)	High scan penetrance, especially useful for large lesions.	Low resolution, cannot evaluate epithelial versus subepithelial nature of lesion.
Confocal microscopy	Able to examine tissue at a cellular level, directly visualizing cellular atypia.	Limited scan width makes it difficult to get "big picture", limited depth of evaluation prevents reliable detection of invasion.
Ultra high resolution ocular coherence tomography (UHR-OCT)	High-resolution imaging with cross sectional view; dynamic noncontact scanning modality reduces need for technical expertise compared to confocal microscopy and UBM. Scanning well tolerated by patient.	Poor penetrance with thicker lesions, cannot reliably detect invasion.

Fuente: Thomas et al., (2014)

Tabla A.5: Advantages and disadvantages of adjunctive diagnostic modalities in OSSN

Imaging modality	Advantages	Disadvantages
Impression cytology	(1) Inexpensive (2) Easy to perform (3) Good correlation with histopathology	(1) Assesses only superficial cells and is unable to sample deep lesions or invasive disease (2) Requires skilled professional to interpret results
Vital dye staining	(1) Inexpensive (2) Easy to use (3) High sensitivity compared to histopathology making it a good screening tool	(1) Low to moderate specificity so a large number of benign lesions would also test positive
Ultrasound biomicroscopy	(1) Good width and depth of penetration allowing the detection of invasive disease and metastasis (2) Can be used for pigmented and thick lesions	(1) Lower resolution images compared to OCT (2) Requires skilled technician or provider to perform imaging (3) Need for eyebath and reclined position (4) Limited utility in noninvasive disease
In vivo confocal microscopy (IVCM)	(1) Allows microscopic and cellular examination of lesion (2) Images are en face	(1) Requires skilled technician or provider to perform test and interpret results (2) Unable to obtain cross-sectional images and thus may miss deep disease (3) Cannot obtain comprehensive scan of entire ocular surface (4) Difficult to obtain IVCM and pathology specimens from the same site (5) Overlap in features with benign ocular surface lesions limiting its use in differentiating OSSN from benign lesions
High resolution anterior segment optical coherence tomography	(1) High resolution images (2) Easy to use, noncontact (3) High specificity and sensitivity for differentiating OSSN from pterygia (4) HR-OCT morphologic features of OSSN are well defined, allowing the differentiation of OSSN from benign and other malignant ocular lesions (5) Ability to image the same site as before and therefore can be used to monitor disease resolution after treatment	(1) Limitation in width and depth of penetration, especially in commercial models (2) Shadowing in pigmented lesions and thick lesions, therefore limiting the ability to determine the posterior limit of lesions

Fuente: Ong et al., (2016)

Tabla A.6: Análisis de probabilidad de recidiva de las OSSN

Tiempo seguimiento (meses)	Recidiva (%)	Vivo, sin recidiva (%)	Fallecido, sin recidiva (%)
1	0,05	99,95	0
3	0,10	99,90	0
6	14,70	85,30	0
12	22,00	76,50	1,50
24	22,00	71,80	6,20
36	23,80	64,90	11,30
48	23,80	63,00	13,20
60	23,80	63,00	13,20

Tabla A.7: Análisis de supervivencia libre de recidiva en función del diagnóstico histopatológico

Tiempo de seguimiento (meses)	Displasia leve / moderada				Displasia severa / Carcinoma			
	Recidiva (%)	Vivo, sin recidiva (%)	Fallecido, sin recidiva (%)	Recidiva (%)	Vivo, sin recidiva (%)	Fallecido, sin recidiva (%)	Fallecido, sin recidiva (%)	
6	13,60	86,40	0	15,20	84,80	0	0	
12	13,60	86,40	0	26,10	71,73	2,17	2,17	
18	13,60	86,40	0	26,10	67,30	6,60	6,60	
24	13,60	86,40	0	26,10	65,00	8,90	8,90	
36	13,60	86,40	0	28,60	55,20	16,20	16,20	
48	13,60	86,40	0	28,60	52,70	18,70	18,70	
60	13,60	86,40	0	28,60	52,70	18,70	18,70	

Tabla A.8: Análisis de supervivencia libre de recidiva en función del tamaño de las OSSN

Tiempo de seguimiento (meses)	OSSN 1-3 horas				OSSN ≥ 4 horas	
	Recidiva (%)	Vivo, sin recidiva (%)	Fallecido, sin recidiva (%)	Recidiva (%)	Vivo, sin recidiva (%)	Fallecido, sin recidiva (%)
6	8,57	91,43	0	21,21	78,79	0
12	8,57	91,43	0	36,36	60,61	3,03
18	8,57	88,17	3,26	36,36	57,58	6,06
24	8,57	84,90	6,53	36,36	57,58	6,06
36	8,57	78,09	13,34	39,98	50,57	9,45
48	8,57	74,37	17,06	39,98	50,57	9,45
60	8,57	74,37	17,06	39,98	50,57	9,45

Tabla A.9: Análisis de supervivencia libre de recidiva en función de la localización de las OSSN

Tiempo de seguimiento (meses)	Limbo nasal / temporal				Otras localizaciones		
	Recidiva (%)	Vivo, sin recidiva (%)	Fallecido, sin recidiva (%)	Recidiva (%)	Vivo, sin recidiva (%)	Fallecido, sin recidiva (%)	
6	16,28	83,72	0	12,00	88,00	0	
12	23,25	74,43	02,32	12,00	88,00	0	
18	23,25	72,10	4,65	20,00	75,56	5,88	
24	23,25	69,53	7,22	20,00	75,56	4,44	
36	26,03	63,97	10,00	20,00	66,67	13,33	
48	26,03	63,97	10,00	20,00	61,54	18,46	
60	26,03	63,97	10,00	20,00	61,54	18,46	

Tabla A.10: Análisis de supervivencia libre de recidiva en función del tejido afectado por las OSSN

Tiempo de seguimiento (meses)	Conjuntiva			Córnea / Córnea + Conjuntiva		
	Recidiva (%)	Vivo, sin recidiva (%)	Fallecido, sin recidiva (%)	Recidiva (%)	Vivo, sin recidiva (%)	Fallecido, sin recidiva (%)
6	17,64	82,36	0	11,76	88,24	0
12	17,64	82,36	0	26,47	70,59	2,94
18	17,64	79,31	3,05	26,47	67,65	5,88
24	17,64	76,26	6,10	26,47	67,65	5,88
36	20,82	69,91	9,72	26,47	60,09	13,45
48	20,82	69,91	9,72	26,47	55,79	17,74
60	20,82	69,91	9,72	26,47	55,79	17,74

Tabla A.11: Análisis de supervivencia libre de recidiva en función del tratamiento inicial de las OSSN

Tiempo de seguimiento (meses)	Cirugía + crioterapia				Cirugía + crioterapia + fármacos coadyuvantes				Fármacos			
	Recidiva (%)		Fallecido, sin recidiva (%)		Recidiva (%)		Fallecido, sin recidiva (%)		Recidiva (%)		Fallecido, sin recidiva (%)	
	Vivo, sin recidiva (%)	0	4,34	15,78	Vivo, sin recidiva (%)	84,22	0	15,38	Vivo, sin recidiva (%)	84,62	0	0
6	86,96											
12	69,58			21,05		78,95	0	19,23		80,77	0	0
18	26,08		8,69	21,05		78,95	0	19,23		80,77	0	0
24	65,23											
36	65,23		8,69	21,05		73,69	5,26	19,23		75,51	5,26	5,26
48	58,71		15,21	21,05		73,69	5,26	23,50		71,24	5,26	5,26
60	58,71		15,21	21,05		73,69	5,26	23,50		71,24	5,26	5,26



